

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

**A.-C. MARIE**

(1864-1935)

---

Notre collègue Marie, dont l'état de santé nous causait de vives inquiétudes depuis plusieurs mois, est mort subitement, le 29 mars dernier, dans son laboratoire.

Auguste-Charles Marie était né à Bayeux le 26 juillet 1864. Ancien interne des hôpitaux, il avait suivi le cours de M. Roux en 1892. Il soutint sa thèse de doctorat en médecine sur le cancer et entra dans notre maison en 1894 pour ne plus la quitter, sauf durant l'année 1899-1900 où il remplit les fonctions de chef du service antirabique à l'Institut de Microbiologie de Constantinople, alors dirigé par notre regretté collègue Maurice Nicolle.

Stimulé par les découvertes récentes de Roux, il s'était attaqué d'emblée au problème physio-pathologique des intoxications microbiennes, qui devait bientôt l'orienter vers l'étude de la rage.

Dans son premier mémoire, publié ici même en 1897, il donne déjà la mesure de son habileté technique, de son imagination expérimentale fertile, solidement tenue en bride par la raison la plus sage, la logique la plus rigoureuse et l'esprit

critique le plus éclairé. Il démontre que la toxine tétanique demeure un temps variable, mais assez court, dans le sang des animaux auxquels elle est injectée. Ce temps écoulé, il devient impossible de la déceler dans les organes, même à l'acmé des accidents tétaniques.

En suivant cette voie, qu'il devinait féconde, Marie étudie l'année suivante le phénomène de Wassermann et Takaki dont ces auteurs prétendaient qu'il traduit « l'action antitétanique des centres nerveux ». Notre collègue discute cette opinion mal fondée et donne la preuve que l'inactivation *in vitro* de la toxine tétanique par la matière cérébrale n'est pas liée à la présence de l'antitoxine spécifique, mais à une « action de contact entre les éléments nerveux et la toxine ».

Puis, avec V. Morax, il se préoccupe (1902-1903) de préciser les modes d'absorption et de propagation du poison tétanique : la toxine se fixe rapidement sur les nerfs à la faveur d'une sorte d'affinité spécifique pour la substance cylindraxile ; une fois fixée, elle se déplace lentement, et cette circulation a pour résultat de la transporter sous une forme diluée dans la cellule ganglionnaire. L'absorption s'effectue indifféremment, mais inégalement, par les trois types de fibres nerveuses, motrices, vaso-motrices et sensibles, en dépit des caractères purement moteurs des symptômes tétaniques ; ce qui indique que la localisation toxique spécifique se produit non pas dans les neurones périphériques, mais dans les neurones cérébraux.

Reprenant avec M. Tiffeneau (1908) l'idée qu'il avait émise en 1898 à propos du mécanisme du phénomène de Wassermann et Takaki, Marie constate que la toxine tétanique, lorsqu'elle est fixée et apparemment inactivée par le cerveau, n'est pas détruite, mais engagée dans une combinaison stable que la digestion diastasique par la papaine peut néanmoins délier en attaquant le support protéidique et en libérant le poison. Le protagon ne joue qu'un rôle très restreint dans le phénomène ; la cholestérine, les cérébrosides purs, tels que la céphaline, et les bases azotées, comme la choline et la névrine, n'y participent d'aucune manière. Quant à la lécithine, loin de neutraliser la toxine, elle l'active, au contraire, à tel point que Marie en conclut dans un travail complémentaire à la possibi-



lité de l'intervention de cette substance lipoidique dans le mécanisme de l'intoxication de la cellule nerveuse.

Cette longue et minutieuse série de recherches ébranlait l'hypothèse d'Ehrlich, d'après laquelle la cellule sensible à la toxine tétanique serait la source même de l'antitoxine correspondante.

Fort de ces constatations, et pour satisfaire aussi les tendances naturelles de son esprit, sa prédilection pour les problèmes généraux de la physiologie et de la pathologie, Marie s'attache ensuite à l'étude des glandes surrénales et de l'adrénaline dans leurs rapports avec les infections et les intoxications. De 1912 à 1919, il établit que l'adrénaline naturelle et le suprarénine synthétique neutralisent les toxines diphtérique et tétanique, ainsi que les toxines végétales, abrine, crotine, ricine, sans toutefois altérer leurs propriétés antigènes, puisque la tétanotoxine rendue inoffensive par l'adrénaline est susceptible d'immuniser les animaux et de faire apparaître dans leur sérum des quantités appréciables d'antitoxine spécifique. On peut même supposer que l'adrénaline est l'un des facteurs naturels de destruction *in vivo* des fractions de la toxine qui ne parviennent pas jusqu'aux centres nerveux.

Nous devons encore à Marie d'importants travaux sur le choléra gastro-intestinal du cobaye, l'action activante des extraits de muqueuse intestinale sur les propriétés pathogènes du vibrion cholérique, et sur la sensibilisatrice anticholérique, qu'il effectua avec son ami de toujours, J. Cantacuzène ; sur la culture du bacille de Koch et la toxicité des tuberculines purifiées à l'égard des animaux sains et des animaux tuberculeux (avec M. Tiffeneau), l'emploi de l'éther acétique comme réactif précipitant des protéides et, plus récemment, sur l'urée sanguine, la cholestérolémie, la neutralisation du sulfate de strychnine, la filtrabilité du virus de la vaccine.

Ses recherches sur la rage et sur l'intoxication tuberculeuse, qui l'avaient familiarisé avec l'inoculation intracérébrale, incitèrent Marie à appliquer ce procédé à la vaccine. Il montra ainsi, pour la première fois (1920), que l'on peut conférer au lapin une véritable vaccine cérébrale, transmissible en série. Le vaccin s'épure dans le cerveau des microbes qui le souillent habituellement et il y conserve toute son

activité pathogène : l'inoculation intracornéenne d'une trace de matière cérébrale infectée par le virus jennérien est régulièrement suivie d'une éruption de vésico-pustules caractéristiques.

Si grande que soit la valeur de ces travaux, les études de Marie sur le virus rabique, commencées à Constantinople et poursuivies jusqu'à ces derniers jours à l'Institut Pasteur, constituent cependant son œuvre maîtresse, sur laquelle il ne cessa de revenir, pour la conduire à un degré de perfection tel que le nom de notre collègue sera toujours associé aux noms de Pasteur et de Roux dans l'histoire de la rage expérimentale. Il en a résumé en ces termes les traits essentiels, à l'occasion du prix Dagnan-Bouveret que l'Académie des Sciences lui décerna, l'an dernier, ainsi qu'à un autre pastorien, P. Remlinger.

« Contrairement à l'hypothèse de certains auteurs, le virus rabique ne perd jamais sa virulence en passant par le cerveau du chien, mais il l'exalte au contraire et, de virus des rues, se transforme rapidement en virus fixe.

« Conformément à certaines hypothèses formulées par Pasteur dans une « Lettre à Duclaux », il est possible d'isoler des cerveaux rabiques une substance qui, non seulement jouit d'un pouvoir neutralisant *in vitro* pour le virus rabique, mais peut aussi préserver des animaux contre une épreuve virulente intraoculaire.

« D'autres moyens préventifs ont été mis en évidence : en particulier, l'encéphale des oiseaux rabiques, qui prennent la rage avec des retards considérables, jouit d'un pouvoir préventif très net pour les mammifères.

« On savait que le sérum des animaux vaccinés contre la rage neutralise *in vitro* le virus rabique. Or, en sensibilisant ce dernier avec ce sérum antirabique, on obtient un vaccin qui peut immuniser le chien pour plus d'une année contre l'épreuve intraoculaire, et même intracérébrale, faite avec un virus des rues. Ces recherches ont été le point de départ des nouveaux procédés appliqués à l'Institut Pasteur chez les mordus. En effet, les essais ayant montré l'importance du virus dans ces mélanges, et la parfaite innocuité, chez



l'homme, du virus fixe, on se décida à abandonner les moelles non virulentes et à commencer la vaccination des mordus avec des moelles virulentes, celles du cinquième jour, ce qui permet de gagner un temps précieux.

« La vaccination contre la rage est également fonction du lieu d'application : ainsi une seule injection de virus atténué par l'éther, faite dans l'espace sous-arachnoïdien, peut suffire pour immuniser le chien et le lapin contre une épreuve intracérébrale avec le virus fixe. Toutefois, il n'y a pas là d'action neutralisante par le liquide céphalo-rachidien, lequel, au contraire, jouit d'un pouvoir conservateur des propriétés virulentes.

« Jusqu'alors, la cavité péritonéale passait pour réfractaire à l'action pathogène du virus rabique ; l'auteur a montré qu'en bloquant par l'encre de Chine le système réticulo-endothélial chez les cobayes, ces animaux ne résistent plus à l'injection intrapéritonéale de virus fixe. »

Les domaines que Marie avait élus, il en dessinait tout d'abord les contours avec la précision d'un architecte ; puis il dégagait les abords touffus, élargissait les clairières, traçait les chemins, et se mettait à bâtir.

Sa raison droite et ferme, sa vaste culture le guidaient sans défaillances dans le choix des matériaux qu'il savait ajuster d'une main sûre. Ni la recherche des honneurs, ni le désir d'une récompense n'ont jamais troublé la sérénité de son labeur ; ni la rudesse des obstacles, pas même la maladie dont il devait mourir, n'ont interrompu un seul instant sa tâche.

Marie nous quitte avant l'heure ; mais il a réalisé paisiblement son rêve de savant et de sage, édifié une œuvre indestructible et donné, avec une simplicité et une générosité également admirables, l'exemple d'une vie entièrement dévouée aux siens, à ses amis et à la Maison de Pasteur.

# ESSAIS SUR L'IMMUNITÉ ANTITOXIQUE

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

## DE L'ACTION TOXIQUE ET IMMUNISANTE DE DIVERSES TOXINES (ABRINE, TOXINE DIPHTÉRIQUE, TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE) INSTILLÉES

### DANS LE SAC CONJONCTIVAL CHEZ LE LAPIN. NATURE ET MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ AINSI PRODUITE IMMUNITÉ « LOCALE » OU « GÉNÉRALE » ?

par G. RAMON et R. RICHOU.

Dans un précédent mémoire (1), l'un de nous, avec la collaboration de M. Djourichitch, a montré que chez le lapin, la peau fraîchement rasée ou épilée est capable d'absorber, en plus ou moins grande quantité, la toxine diphtérique que l'on applique à sa surface. L'intensité de l'absorption varie avec l'excipient de la toxine. Le poison diphtérique lors de son absorption se fixe d'abord, momentanément et partiellement, sur le derme et les tissus sous-jacents et provoque de leur part des réactions inflammatoires qui vont de la congestion jusqu'à l'escarre. La toxine absorbée est ensuite et en grande partie entraînée par la circulation jusque dans l'intimité de l'organisme. Si elle est en quantité suffisante et si sa pénétration est rapide, elle peut amener la mort de l'animal par intoxication générale.

Lorsque, par contre, l'absorption est plus graduée et plus lente — et ici se fait sentir d'une part, l'influence de l'excipient, d'autre part, l'action des phénomènes inflammatoires à la porte d'entrée — la toxine ne produit le plus souvent dans l'organisme aucun trouble apparent, elle est alors à même de pouvoir jouer son rôle d'antigène. En cette qualité, elle provoque l'apparition dans la circulation sanguine de l'antitoxine spécifique. L'antitoxine véhiculée par le sang, pénétrant partout où il pénètre, réalise l'immunité antitoxique « générale ». La résistance à l'intoxication locale spécifique, constatée à un moment

(1) *Ces Annales*, 54, 1935, p. 1.



donné chez nos animaux d'expérience au niveau des applications successives de la toxine, est la conséquence et le témoignage de cette immunité antitoxique générale, ce n'est donc pas là, nos recherches l'établissent nettement, le résultat d'une immunité locale autonome et primitive.

Les faits observés au cours des essais ayant fait l'objet de notre premier mémoire, les déductions que nous en avons tirées et que nous venons de rappeler succinctement vont trouver leur confirmation dans les nouvelles recherches qui seront exposées dans le présent mémoire.

\*  
\* \*

Il est des expériences qui acquièrent de l'importance moins par leur valeur propre, qui est cependant grande, que par l'interprétation que l'on fournit de leurs résultats ou par les déductions théoriques que l'on en tire.

Tel est, par exemple, le cas de l'expérience très belle en soi réalisée dès 1891, par Ehrlich (1). Moins d'un an, en effet, après la découverte de l'immunité antitoxique (Behring 1890), Ehrlich réussit à immuniser l'œil du lapin contre l'action toxique de la ricine ou de l'abrine au moyen d'applications sur cet œil même de l'une ou de l'autre de ces toxines végétales.

Plus tard, Römer (2) répétant, dans des conditions analogues, les expériences d'Ehrlich, reprend avec succès l'immunisation de l'œil du lapin à l'aide d'instillations d'abrine.

Pour Römer, comme pour Ehrlich, il s'agit là d'une immunité « *strictement locale* » précédant l'immunité générale. En effet, d'après Römer, si l'on traite par des instillations successives d'abrine l'un des yeux et non l'autre, on constate que l'œil traité ne présente plus à un moment donné de réaction, alors que l'autre œil éprouvé à ce même moment, et pour la première fois, au moyen d'une instillation d'abrine réagit fortement et n'acquiert une résistance certaine qu'après l'établissement d'une immunité antitoxique générale solide : l'immunité « locale », écrit Römer, existe avant l'immunité « générale ».

(1) P. EHRLICH. *Deutsch. Med. Woch.*, 1891, p. 966 et 1218.

(2) P. RÖMER, *Gräfs Archiv. f. Ophth.*, 52, 1900, p. 72.

Ces expériences ont d'ailleurs servi à étayer la fameuse théorie des « chaînes latérales » d'Ehrlich. En effet, d'après Römer, les cellules sensibles de la conjonctive fixent l'abrine, grâce à leurs récepteurs spécifiques. Ces récepteurs, en se régénérant rapidement, deviennent trop abondants, ils tombent dans la circulation sous forme de « récepteurs libres » ou « anticorps » capables de fixer dans le sang, ou ailleurs, la toxine. En somme, selon Ehrlich et Römer, l'antitoxine est due à une « production locale » des cellules sensibles, ici les cellules de la conjonctive qui reçoit l'abrine, d'où « l'immunité antitoxique locale » réservée à l'œil traité par les instillations, puis cette antitoxine est déversée peu à peu dans la circulation, d'où l'immunité antitoxique « générale ». L'immunité « locale » est un stade, une étape de l'immunité générale, écrit encore Römer.

Malgré les doutes émis sur sa réalité par quelques auteurs [Ludvig Hektoen (1), Elisabeth Lee Hazen (2), etc...] qui se contentent de la discuter sans apporter des faits précis, cette conception d'une immunité en premier lieu strictement locale émise par Ehrlich, puis appuyée par Römer, trouve encore des adeptes. C'est ainsi que Bowen, instillant dans l'œil du cobaye à la fois de la toxine et des bacilles diphtériques tués, aurait obtenu une immunité locale d'une durée d'au moins deux mois et qui, apparemment, n'était accompagnée que d'un faible degré d'immunité générale (3). Par contre, Zøller (4) avait montré antérieurement qu'en instillant à plusieurs reprises dans les culs-de-sac conjonctivaux de l'œil du cobaye une émulsion de bacilles diphtériques tués, on ne réussit pas à obtenir l'immunité locale, et il fit connaître que deux injections sous-cutanées d'anatoxine diphtérique protègent le cobaye contre la kérato-conjonctivite diphtérique expérimentale.

Dans le même ordre d'idée, Chr. Zøller et l'un de nous,

(1) *Journ. of Infect. Diseases*, 9, 1911, p. 103. Dans ce mémoire L. Hektoen, en examinant les résultats de l'expérience de Römer, indique que la conjonctive peut avoir été saturée au moment de l'épreuve par l'antitoxine du sang et par conséquent, on ne peut, dit-il, revendiquer une protection strictement locale.

(2) *Journ. of Immunol.*, 13, 1927, p. 171.

(3) *Journ. of Infect. Diseases*, 1925, p. 501.

(4) *C. R. Soc. de Biol.*, 1924, p. 660 et 1400.



réussissent à conférer à l'homme l'immunité antidiphtérique ou antitétanique au moyen d'instillations nasales répétées d'anatoxine spécifique. Ils établissent qu'il s'agit là non pas d'une immunité *locale*, mais d'une *immunité antitoxique générale*, de même nature quoiqu'en général d'un moindre degré que l'immunité obtenue en injectant l'anatoxine sous la peau (1).

\*  
\* \*

L'idée d'une « *immunité locale* » (2) a été de nouveau mise en évidence au cours de ces dernières années par Besredka et ses collaborateurs. On sait que, d'après Besredka, en rasant simplement la peau, on réalise l'immunité locale non spécifique (3). En pratiquant ensuite la cuti-vaccination au moyen de crèmes renfermant de la toxine diphtérique, on crée une immunité spécifique rigoureusement « *locale* ». Celle-ci aboutit dans la suite à l'immunité antidiphtérique générale.

Dans des essais effectués à la demande de Besredka, son collaborateur Urbain a montré que le phénomène de l'immunité « antidiphtérique locale », consécutif à une simple friction de la peau s'applique aux muqueuses (4). En effet, d'après Urbain, en frictionnant au moyen d'une spatule une des lèvres du vagin, chez la jument, la vache, la chienne, etc., puis en soumettant après un délai de quatre jours, les deux lèvres à une friction simultanée au moyen de la crème diphtérique, on provoque de cette façon des érosions et des escarres sur la muqueuse non frictionnée, alors qu'aucune réaction n'est constatée au niveau des lèvres antérieurement frictionnées; celles-ci demeurent complètement indemnes. Nous devons donc admettre, écrit tout récemment Besredka (5), qu'un traumatisme si léger soit-il, qu'il s'agisse de la peau antérieurement rasée ou d'une muqueuse antérieurement frictionnée, a pour effet de renforcer l'immunité naturelle. Il y a, selon notre savant collègue, accroissement de l'immunité locale. Comme conclusion pra-

(1) G. RAMON et Chr. ZOELLER. *C. R. Soc. de Biol.*, 96, 1927, p. 737.

(2) Voir à ce propos le bel article de E. Renaux « Immunité locale ». *Bull. de l'Assoc. des Diplômés de Microbiologie de la Faculté de Nancy*, fasc. 6, 1934.

(3) Voir A. BESREDKA. *Ces Annales*, 46, 1931, p. 542.

(4) A. URBAIN. *C. R. Soc. de Biol.*, 115, 1934, p. 486.

(5) A. BESREDKA. *Ces Annales*, 54, 1935, p. 273.

tique, Besredka à la suite de ces recherches se demande « si « en temps d'épidémie, il ne serait pas indiqué de frictionner « la gorge des enfants bien portants pour renforcer leur immu-  
« nité naturelle locale (1) ».

Une autre forme de « l'immunité locale », selon Besredka, est celle due à « l'antivirus » (2). L'antivirus, d'après Besredka, vaccine les cellules réceptives sans le concours des anticorps. Tel est l'antivirus staphylococcique qui possède une affinité élective pour les cellules de certaines muqueuses et se montre capable de les immuniser spécifiquement. Instille-t-on par exemple, de l'antivirus staphylococcique dans le sac conjonctival de l'œil droit du lapin, l'œil gauche restant indemne de tout traitement, on constate à la suite de l'inoculation d'épreuve, faite quelques jours après au moyen de staphylocoques, que l'œil droit traité par l'antivirus est immunisé, alors que l'œil gauche non traité subit l'infection. Il s'agit donc ici encore, estime Besredka, d'une *immunité strictement locale et rigoureusement spécifique*.

\*  
\* \*

Le court exposé que nous venons de faire des travaux, des conceptions, des hypothèses, concernant ce que l'on a improprement appelé, à notre avis (3), « l'immunité locale »

(1) Nous croyons qu'un traumatisme, même léger, bien loin de renforcer l'immunité naturelle d'une muqueuse vis-à-vis du germe diphtérique, la diminue chez les porteurs de germes en particulier. N'est-ce pas précisément en provoquant un traumatisme au niveau d'une muqueuse que la plupart des expérimentateurs réalisent l'infection au moyen du germe de Löffler. Nous avons eu l'occasion de relater avec R. Debré et P. Thirolloix le fait clinique suivant : un traumatisme de la gorge chez un enfant a favorisé l'éclosion d'une diphtérie avec fausses membranes typiques, malgré que cet enfant possédât une immunité antitoxique très appréciable (+ 1/30 d'unité antitoxique par centicube de sang). Grâce à cette immunité antitoxique, le sujet ne présenta aucun signe d'intoxication. *Bulletin et Mémoire des Hôpitaux*, n° 3, 17 avril 1931.

(2) Voir BESREDKA, Antivirusthérapie, Masson et C<sup>ie</sup>, 1930, p. 1 et 30.

(3) Nous sommes d'accord, en cela, avec de nombreux expérimentateurs comme J. Bordet, E. Renaux, Topley et Wilson, Zinsser, etc., et nous rappellerons ici cette phrase de J. Bordet et E. Renaux : « On ne doit pas se laisser fasciner ou suggestionner par les mots, serviteurs tyranniques auxquels on obéit autant qu'on leur commande », phrase que E. Renaux cite en tête de son article « Immunité locale » (Conférences faites au laboratoire de microbiologie de la Faculté de Nancy, 1934, fasc. 6).

Nous renvoyons, pour les renseignements et la bibliographie de ces questions ou des questions connexes, à la revue si documentée de Monroe D. Eaton et Stanhope Bayne-Jones. *Journ. Amer. Med. Ass.*, 103, 1934, n° 23, 24 et 25.



permet de saisir le puissant intérêt à la fois doctrinal et pratique de cette question même limitée au domaine que nous envisageons.

C'est pourquoi, à la faveur des données récemment acquises et en nous aidant de techniques nouvelles, nous avons entrepris l'étude de l'action toxique et immunisante de diverses toxines, en particulier de l'abrine, de la toxine diphtérique, de la toxine staphylococcique, sur la muqueuse conjonctivale du lapin, cherchant ainsi, par l'accumulation des faits et des observations, à préciser la nature et le mécanisme de l'immunité, que l'on peut réaliser de cette manière (1).

## I. — ESSAIS RÉALISÉS AU MOYEN DE L'ABRINE OU DE SON DÉRIVÉ ANATOXIQUE

Nous avons utilisé, en premier lieu, dans nos recherches, l'abrine.

On sait depuis longtemps que l'abrine instillée dans l'œil, même en dilution très étendue, provoque une violente inflammation de la conjonctive. Nous avons donc là un moyen d'épreuve capable de nous renseigner d'une façon très nette sur la résistance que peut acquérir la muqueuse conjonctivale soumise à des instillations répétées de cette toxine végétale.

De plus, l'abrine, grâce à sa propriété antigène, entraîne *in vivo*, l'apparition et le développement d'une véritable antitoxine, l'anti-abrine, qui peut être dosée (2) avec facilité et précision.

### CONDITIONS GÉNÉRALES DES EXPÉRIENCES.

Nous avons employé, au cours de nos expériences, une solution d'abrine, soit pure, soit diluée. Cette solution est

(1) Voir nos communications préliminaires : G. Ramon, R. Richou et M. Djouritch. *C. R. Acad. Sc.*, 199, 1934, p. 1456; G. Ramon et R. Richou. *C. R. Soc. Biol.*, 117, 1934, p. 1058 et 1062.

(2) Voir, par exemple, sur l'abrine, sa préparation, ses propriétés :

CALMETTE, *Ces Annales*, 1895, p. 225.

RÉPIN, *Ibid.*, 1895, p. 517.

CALMETTE et DELÉARDE, *Ibid.*, 1896, p. 675.

BROcq-ROUSSEU, *Rec de Méd. vétérinaire*, mars 1922.

préparée de la façon suivante : 15 grammes de graines de Jéquirity sont broyées et mises à macérer dans 150 cent. cubes d'eau distillée. Vingt-quatre heures plus tard, on ajoute 50 cent. cubes d'eau physiologique. On agite fréquemment le mélange et, après quarante-huit heures de macération, on filtre sur filtre Laurent.

Le pouvoir toxique de la solution d'abrine ainsi obtenue est titré sur des cobayes de 300 grammes.

1 cent. cube de la dilution au 1/10 tue le cobaye en vingt-quatre à trente-six heures;

1 cent. cube de la dilution au 1/30 tue le cobaye en deux à trois jours;

1 cent. cube de la dilution au 1/40 tue le cobaye en quatre jours;

1 cent. cube de la dilution au 1/100 provoque encore l'apparition d'un large plastron œdémateux suivi d'une importante escarre humide qui s'élimine lentement en causant un gros délabrement. Souvent la mort survient en huit à dix jours.

Au cours de nos essais, nous avons toujours constaté que l'instillation dans l'œil du lapin d'une goutte pure de notre macération d'abrine est suivie, au bout de dix-huit à vingt-quatre heures, d'une conjonctivite intense, s'accompagnant d'une sécrétion muco-purulente plus ou moins abondante et même d'un léger œdème des paupières.

Cette réaction s'exacerbe au bout de quelques heures; la suppuration augmente, les paupières restent accolées l'une à l'autre et l'animal est dans l'impossibilité d'ouvrir l'œil. Puis les symptômes régressent lentement et disparaissent à peu près complètement en cinq à six jours.

L'instillation d'une goutte diluée au 1/3, au 1/5 et même au 1/10 provoque l'apparition des mêmes symptômes, mais ils sont généralement moins accusés et leur régression est plus rapide.

Notons, toutefois, qu'il existe des différences individuelles marquées, aussi convient-il, pour éviter les erreurs d'interprétation, d'employer des doses suffisantes capables d'entraîner, chez tous les animaux neufs, une réaction inflammatoire nette.

#### PRODUCTION DE L'IMMUNITÉ ANTITOXIQUE

AU MOYEN D'INSTILLATIONS D'ABRINE DANS LE SAC CONJONCTIVAL  
DE L'ŒIL DU LAPIN.

Dans une première série d'expériences, nous avons instillé, dans le sac conjonctival de l'œil droit d'un certain nombre de



lapins et à des intervalles de temps variables, des quantités croissantes de notre solution d'abrine; par exemple, I ou II gouttes de la solution diluée au  $1/10$ , puis au  $1/5$ , puis au  $1/3$  et enfin I et même II gouttes de notre solution pure. Nous examinons l'œil de nos lapins dix-huit à vingt-quatre heures après l'instillation et tous les jours, tant que durait la réaction.

A un moment donné, l'œil droit, ainsi traité, ne réagissant plus à une dose donnée d'abrine, nous éprouvions sans plus tarder l'œil gauche avec la même dose d'abrine afin de nous rendre compte par là si l'immunité est exclusivement réservée à l'œil préalablement traité et si, par conséquent, elle est d'ordre strictement local.

De plus, les animaux étant saignés à différentes reprises, nous recherchions par un dosage chez le cobaye l'apparition de l'anti-abrine dans le sang. Dans ce but, nous ajoutions à une quantité fixe de notre solution d'abrine des quantités variables de sérum et nous injectons ces divers mélanges à des cobayes de 300 grammes, afin de voir quelle quantité de sérum est capable de neutraliser une dose d'abrine sûrement mortelle pour des cobayes de même poids.

Voici, avec divers renseignements, les résultats de trois de nos expériences (tableau I). Nous avons choisi à dessein l'exemple d'un lapin réagissant faiblement à l'instillation d'une goutte de la solution d'abrine au  $1/10$  et celui de 2 lapins réagissant fortement à l'instillation d'une goutte de la même dilution.

Il résulte de ces expériences et d'autres expériences semblables qu'*au moment où l'œil droit traité par l'abrine ne réagit plus à une nouvelle dose de cette toxine, l'œil gauche non traité ne réagit pas davantage et le sang de l'animal renferme une quantité appréciable d'anti-abrine.*

Remarquons, en outre, que l'anti-abrine se montre déjà dans la circulation et pourtant l'œil traité au préalable par l'abrine comme l'œil non traité offre une réaction qui, quoique affaiblie est nette encore (l'exemple du lapin n° 39-40-37 est particulièrement probant à cet égard). Soulignons également ce fait que nous retrouverons dans d'autres expériences effectuées à l'aide de la toxine diphtérique par exemple, à savoir que l'absence totale de réaction locale exige la présence

TABLEAU I.

DATES	OËIL DROIT		OËIL GAUCHE		QUANTITÉ de sérum neutralisant 1/30 c. c. d'abrine
	Doses d'abrine instillées	Réaction observée	Doses d'abrine instillées	Réaction observée	
Lapin n° 77-73-50 :					
27 avril . . .	I goutte au 1/10.	Conjonctivite légère.			
1 <sup>er</sup> mai . . .	I goutte au 1/10.	Conjonctivite légère.			
7 mai . . .	II gouttes au 1/10.	Conjonctivite légère.			
11 mai . . .	II gouttes au 1/10.	Conjonctivite légère.			
15 mai . . .	II gouttes au 1/3.	Conjonctivite assez marquée.			
19 mai . . .	II gouttes au 1/3.	Aucune réaction.			
21 mai . . .	I goutte pure.	Aucune réaction.			
26 mai . . .	I goutte pure.	Aucune réaction.			
31 mai . . .	II gouttes pures.	Aucune réaction.			
4 juin . . .	II gouttes pures.	Aucune réaction.			
9 juin . . .	II gouttes pures.	Aucune réaction.			
14 juin . . .	II gouttes pures.	Aucune réaction.			
18 juin . . .	II gouttes pures.	Aucune réaction.			
23 juin . . .	II gouttes pures.	Aucune réaction.			
Lapin n° 39-40-37 :					
23 septembre .	I goutte au 1/10.	Conjonctivite. Pus.			
2 octobre . .	II gouttes au 1/10.	Conjonctivite. Pus.			
9 octobre . .	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite. Pus.			
16 octobre . .	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite. Pus.			
22 octobre . .	II gouttes au 1/3.	Conjonctivite. Pleurs.			
27 octobre . .	I goutte pure.	Conjonctivite légère.			
28 octobre . .	Néant.				
2 novembre . .	I goutte pure.	Aucune réaction.			
Lapin n° 34-32-37 :					
27 septembre .	I goutte au 1/10.	Conjonctivite. Pus.			
2 octobre . .	II gouttes au 1/10.	Conjonctivite. Pus.			
9 octobre . .	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite. Pus.			
16 octobre . .	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite marquée.			
22 octobre . .	II gouttes au 1/3.	Conjonctivite. Muco-pus.			
27 octobre . .	I goutte pure.	Conjonctivite légère. Pleurs.			
28 octobre . .					
2 novembre . .	I goutte pure.	Aucune réaction.			
Pas d'antitoxine décelable					
	II gouttes au 1/10.	Conjonctivite légère.			
	I goutte pure.	Aucune réaction.			
	II gouttes pures.	Aucune réaction.			
	II gouttes pures.	Aucune réaction.			
	II gouttes pures.	Aucune réaction.			
1 c. c. 1/2.					
	I goutte pure.	Conjonctivite légère.			
	I goutte pure.	Aucune réaction.			
1/2 cent. cube.					
	I goutte pure.	Conjonctivite légère.			
	I goutte pure.	Aucune réaction.			
1/3 cent. cube.					
	I goutte pure.	Conjonctivite légère. Pleurs.			
	I goutte pure.	Aucune réaction.			

d'une proportion importante d'antitoxine dans le sang de l'animal.

\*  
\* \*

Dans une seconde série d'expériences, nous avons instillé dans l'œil droit de plusieurs lapins des doses croissantes d'abrine, l'œil gauche recevant une instillation sur deux.

Nous avons résumé dans le tableau II les conditions de trois de nos expériences de cette série avec leurs résultats.

D'après ces résultats, *la résistance à l'intoxication existe donc en même temps dans l'œil droit qui a reçu la totalité des doses d'abrine et dans l'œil gauche qui n'en a reçu que la moitié.* Comme dans les expériences précédentes, l'anti-abrine apparaît dans le sang des animaux un peu avant que les deux yeux se montrent réfractaires à l'intoxication provoquée au niveau de la conjonctive par l'instillation d'abrine.

DE L'IMMUNITÉ OBTENUE PAR INSTILLATIONS,  
DANS LE SAC CONJONCTIVAL DE L'ŒIL DU LAPIN,  
D'UNE MACÉRATION D'ABRINE FORTEMENT ATTÉNUÉE.

On sait, depuis les travaux de l'un de nous, que, sous l'influence du formol et de la chaleur ménagée, l'abrine perd graduellement sa toxicité et se transforme en un dérivé anatoxique, l'ana-abrine (1). Nous avons réalisé un certain nombre d'expériences avec une macération d'abrine atténuée dans sa toxicité au moyen du formol, mais non encore transformée en ana-abrine.

A 100 cent. cubes d'une solution d'abrine, obtenue au moyen de la technique indiquée précédemment, nous ajoutons 0 c. c. 4 à 0 c. c. 5 de formol. Après trente à quarante jours à l'étuve (38° à 40°), cette solution qui, primitivement, tuait en deux à trois jours un cobaye de 300 grammes à la dose de 1/30 de centimètre cube, ne se montre plus toxique pour cet animal, même à la dose de plusieurs centicubes, mais son injection est suivie de l'apparition d'un œdème plus ou moins important.

Tous les quatre à cinq jours, 2 lapins reçoivent dans l'œil

(1) A propos de l'ana abrine, voir G. RAMON. Ces *Annales*, 39, 1925, p. 1.



TABLEAU II.

DATES	OEIL DROIT		OEIL GAUCHE		QUANTITÉ de sérum neutralisant 1/30 c. c. d'abrine
	Doses d'abrine instillées	Réaction observée	Doses d'abrine instillées	Réaction observée	
Lapin n° 4-5-59 :					
12 mai . . . . .	I goutte au 1/10.	Conjonctivite légère.	I goutte au 1/10.	Conjonctivite.	
16 mai . . . . .	I goutte au 1/10.	Conjonctivite légère.			
22 mai . . . . .	II gouttes au 1/10.	Conjonctivite. Pleurs.	II gouttes au 1/10.	Conjonctivite. Pleurs.	
26 mai . . . . .	II gouttes au 1/10.	Conjonctivite.			
31 mai . . . . .	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite marquée.	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite marquée.	
4 juin . . . . .	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite légère.			
9 juin . . . . .	II gouttes au 1/3.	Conjonctivite légère.	II gouttes au 1/3.	Conjonctivite légère.	
14 juin . . . . .	II gouttes au 1/3.	Aucune réaction.			
18 juin . . . . .	I goutte pure.	Aucune réaction.	I goutte pure.	Aucune réaction.	Traces anti-abrine.
23 juin . . . . .	I goutte pure.	Aucune réaction.	II gouttes pures.	Aucune réaction.	1 c. c. 1/2.
27 juin . . . . .	II gouttes pures.	Aucune réaction.			1/2 cent. cube.
30 juin . . . . .	II gouttes pures.	Aucune réaction.	II gouttes pures.	Aucune réaction.	1/2 cent. cube.
4 juillet . . . . .	II gouttes pures.	Aucune réaction.			
7 juillet . . . . .	II gouttes pures.	Aucune réaction.	II gouttes pures.	Aucune réaction.	1/3 cent. cube.
11 juillet . . . . .	II gouttes pures.	Aucune réaction.			1 cent. cube.
15 septembre . . . . .	II gouttes pures	Aucune réaction.	II gouttes pures.	Aucune réaction.	
Lapin n° 43-44-37 :					
27 septembre . . . . .	I goutte au 1/10.	Conjonctivite. Pus.	I goutte au 1/10.	Conjonctivite. Pus.	
2 octobre . . . . .	II gouttes au 1/10.	Conjonctivite. Pus.			
9 octobre . . . . .	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite. Pus.	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite. Pus.	
16 octobre . . . . .	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite. Pus.			
22 octobre . . . . .	II gouttes au 1/3.	Conjonctivite. Pus.	II gouttes au 1/3	Conjonctivite. Pus.	2 cent. cubes.
27 octobre . . . . .	I goutte pure.	Conjonctivite légère.			4 cent. cube.
28 octobre . . . . .	Néant.		I goutte pure.	Conjonctivite légère.	1/2 cent. cube.
2 novembre . . . . .	I goutte pure.	Aucune réaction.	I goutte pure.	Aucune réaction.	
Lapin n° 35-36-37 :					
27 septembre . . . . .	I goutte au 1/10.	Conjonctivite. Pus.	I goutte au 1/10.	Conjonctivite. Pus.	
2 octobre . . . . .	II gouttes au 1/10.	Conjonctivite. Pus.			
9 octobre . . . . .	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite. Pus.	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite. Pus.	
16 octobre . . . . .	II gouttes au 1/5.	Conjonctivite marquée.			
22 octobre . . . . .	II gouttes au 1/3.	Conjonctivite. Muco-pus.	II gouttes au 1/3	Conjonctivite. Flocons de pus.	1 cent. cube.
27 octobre . . . . .	I goutte pure.	Conjonctivite légère.			1/3 cent. cube.
28 octobre . . . . .	I goutte pure.	Aucune réaction.	I goutte pure.	Conjonctivite très légère.	1/3 cent. cube.
29 octobre . . . . .	I goutte pure.	Aucune réaction.	I goutte pure.	Aucune réaction.	1/3 cent. cube.

droit II à IV gouttes de cette solution d'abrine atténuée. La réaction conjonctivale est très faible, voire nulle. Ce n'est qu'après 15 instillations de ce genre qu'il est possible de déceler, dans le sérum des lapins ainsi traités, une quantité appréciable d'anti-abrine (voir tableau III), alors qu'en général, il suffit, comme nous l'avons vu, de 5 à 6 instillations d'une goutte d'abrine ayant gardé toute sa toxicité pour faire apparaître l'anti-abrine dans le sang.

Il semble donc que les phénomènes inflammatoires dus à l'action toxique de l'abrine sur la conjonctive exercent leur influence sur la vitesse d'apparition et sur la production de l'anti-abrine.

Ajoutons qu'ici encore, *l'absence totale de réaction à l'abrine est constatée en même temps dans les deux yeux, dans l'œil traité par le dérivé anatoxique comme dans l'œil non traité.*

ABSENCE DE RÉACTION DE L'ŒIL A L'ABRINE,  
CHEZ LES ANIMAUX IMMUNISÉS  
PAR INJECTION SOUS-CUTANÉE D'ANA-ABRINE.

L'apparition de l'immunité oculaire à l'abrine, provoquée par l'instillation dans l'œil de doses croissantes d'abrine, coïncidant dans nos essais avec l'apparition de l'immunité générale — qui se traduit par la présence de l'anti-abrine dans le sang — nous avons réalisé la contre-épreuve. En immunisant des lapins par la voie sous-cutanée et à l'aide d'ana-abrine, nous avons voulu voir si, au moment où le sérum contient de l'anti-abrine, l'œil réagit à l'instillation d'une certaine quantité d'abrine (I goutte de notre macération pure).

Les résultats de deux de nos essais sont contenus dans le tableau n° IV.

Nous constatons donc que, dès que le sang de lapins immunisés par voie sous-cutanée et à l'aide d'ana-abrine est suffisamment riche en anti-abrine, l'épreuve de la conjonctive, au moyen d'une goutte d'abrine non modifiée, se révèle négative.

\* \*

*En résumé, les expériences que nous venons de rapporter montrent que la résistance à l'action toxique exercée par*



TABLEAU III.

PROTOCOLE	OEIL DROIT		OEIL GAUCHE		QUANTITÉ de sérum neutralisant 1/30 c.c. d'abrine
	Instillation	Réaction observée	Instillation	Réaction observée	
Lapin n° 80-84-37 :					
7 avril . . .	II gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
11 avril . . .	II gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
16 avril . . .	III gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
20 avril . . .	III gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
23 avril . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
26 avril . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
28 avril . . .	I goutte abrine.	Conjonctivite. Pus.			
7 mai . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
12 mai . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
16 mai . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
22 mai . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
26 mai . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
31 mai . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
4 juin . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
7 juin . . .	I goutte abrine.	Conjonctivite. Pus.			
11 juin . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.	I goutte abrine.	Conjonctivite. Pleurs.	1 cent. cube.
16 juin . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
21 juin . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
25 juin . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.	I goutte abrine.	Conjonctivite.	1 cent. cube.
30 juin . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
4 juillet . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.			
9 juillet . . .	IV gouttes ana-abrine.	Conjonctivite très légère.	I goutte abrine.	Conjonctivite. Pleurs.	1 cent. cube.
12 juillet . . .	I goutte abrine.	Conjonctivite. Pleurs.			
16 juillet . . .	Néant.	Aucune réaction.			
21 juillet . . .	IV gouttes ana-abrine.	Aucune réaction.			
25 juillet . . .	IV gouttes ana-abrine.	Larmoiement. Pas de conjonctivite.	I goutte abrine.	Larmoiement. Pas de conjonctivite.	1/2 cent. cube.
28 juillet . . .	I goutte abrine.				
2 août . . .					1/4 cent. cube.

TABLEAU IV.

PROTOCOLE	INJECTION d'ana-abrine en cent. cubes	ÉPREUVE DANS L'ŒIL	RÉACTION observée	QUANTITÉ de sérum neutralisant 1/30 c. c. d'abrine
<i>Lapin n° 95-96-45 :</i>				
21 avril. . .	2	I goutte abrine pure, œil droit.	Conjonctivite.	Traces d'anti-abrine. 2 cent. cubes.
28 avril. . .	2			
4 mai. . .	4			
12 mai. . .	8	I goutte abrine pure, œil gauche.	Aucune réaction.	1/2 cent. cube. 1/3 cent. cube. 1/3 cent. cube.
22 mai. . .	8			
28 mai. . .	8			
7 juin. . .	8	I goutte abrine pure, œil droit.	Aucune réaction.	1/3 cent. cube. 1/3 cent. cube. 1/6 cent. cube.
14 juin. . .	10			
21 juin. . .				
<i>Lapin n° 97-98-45 :</i>				
21 avril. . .	2	I goutte abrine pure, œil droit.	Conjonctivite. Pus.	Traces d'anti-abrine. 1 c. c. 1/2.
28 avril. . .	2			
4 mai. . .	4			
12 mai. . .	8	I goutte abrine pure, œil gauche.	Aucune réaction.	1/2 cent. cube. 1/3 cent. cube. 1/3 cent. cube.
22 mai. . .	8			
28 mai. . .	8			
7 juin. . .	8	I goutte abrine pure, œil droit.	Aucune réaction.	1/3 cent. cube. 1/3 cent. cube. 1/3 cent. cube.
14 juin. . .	10			
21 juin. . .				

*l'abrine que l'on constate, à un moment donné, au niveau de l'œil préalablement traité par des instillations de cette toxine végétale s'étend également, et en même temps, à l'œil non traité; elle n'est donc pas, comme le supposait Ehrlich, comme l'affirmait plus tard Rümer et comme on l'a souvent répété jusqu'à aujourd'hui encore, d'ordre strictement « local ».*

*Cette résistance s'établit après et non avant l'apparition dans le sang de l'anti-abrine dont l'antigène provoque la formation, non pas à la porte d'entrée, mais au sein même de l'organisme, et cela quelle que soit la voie d'introduction de cet antigène. Ainsi se trouve affirmée, une fois de plus, par nos expériences la primauté de l'immunité humorale, que soutient depuis longtemps Jules Bordet.*

*Nos expériences montrent, en outre, que les phénomènes inflammatoires provoqués par l'action de l'abrine sur la conjonctive et qui sont plus ou moins accentués suivant le pouvoir toxique de l'abrine ou de ses dérivés, exercent leur influence sur*



*la rapidité et sur l'importance de la production de l'anti-abrine par l'organisme et par conséquent sur l'acquisition progressive de la résistance de la muqueuse conjonctivale vis-à-vis de l'intoxication par l'abrine. Ces phénomènes n'ont, par contre, aucune influence sur la nature de l'immunité.*

## II. — ESSAIS RÉALISÉS AVEC LA TOXINE DIPHTÉRIQUE ET AVEC SON DÉRIVÉ L'ANATOXINE

C'est presque uniquement au moyen de la culture du bacille de Löffler et à la faveur d'un traumatisme préalable de la conjonctive que l'on provoquait jusqu'ici l'inflammation diphtérique expérimentale de cette muqueuse. Coppez n'ayant pu produire de lésions par les instillations de toxine diphtérique seule, dans l'œil, en avait conclu que cette toxine est incapable de provoquer l'altération de la cornée si l'épithélium cornéen est intact (1).

Cependant Morax et Elmassian (2) avaient montré, en 1898, qu'un contact prolongé de la toxine diphtérique avec la conjonctive est suivi d'une réaction inflammatoire de celle-ci. Pour obtenir cette réaction avec la toxine qu'ils utilisaient et qui tuait le cobaye de 500 grammes à la dose de 1/100 de centicube, Morax et Elmassian étaient dans l'obligation de faire des instillations toutes les trois minutes pendant huit à dix heures, la toxine employée étant, au préalable, diluée au 1/5; ils n'avaient pu déceler l'existence de l'immunité, même en répétant les instillations, chez les mêmes animaux et dans les mêmes conditions, après un intervalle de dix à douze jours.

Les progrès réalisés au cours de ces dernières années (3) dans la production de la toxine diphtérique devaient nous permettre d'obtenir facilement ce que nos prédécesseurs en ce domaine n'avaient pu réaliser.

(1) H. COPPEZ. *Rev. gén. d'Ophtal.*, n° 5, 1897, p. 197.

(2) MORAX et ELMASSIAN. Ces *Annales*, 12, 1898, p. 220 et IX<sup>e</sup> Congrès international d'Ophtalmologie, Utrecht, 1899.

(3) G. RAMON. *C. R. Acad. des Sc.*, 139, 1929, p. 178 et *C. R. Soc. de Biol.*, 112, 1933, p. 8.

## CONDITIONS DES EXPÉRIENCES.

Ainsi que nous avons pu le constater dès le début de nos essais, il suffit de déposer simplement sur l'œil du lapin une seule goutte de toxine diphtérique, telle que celle que l'on produit couramment à l'heure actuelle et qui, en injection sous-cutanée, tue un cobaye de 500 grammes à la dose de  $1/1.000$  à  $1/1.500$  de centicube (1), pour provoquer une réaction de la conjonctive en tous points comparable à celle qui résulte d'ins-tillation d'abrine et analogue aussi à celle que provoque l'infec-tion diphtérique elle-même. Cette réaction apparaît après dix-huit à vingt-quatre heures et atteint son maximum au bout de trente-six à quarante-huit heures. Elle consiste en une conjonc-tivite plus ou moins intense, véritable conjonctivite diphtérique avec paupières œdémateuses et rapprochées, avec sécrétion séro-purulente et exsudation pseudo-membraneuse s'écoulant par la fente palpébrale. La cornée est assez souvent atteinte et présente alors un trouble diffus et de coloration opaline; chez plusieurs de nos lapins, nous avons même assisté à une véritable fonte purulente de l'œil, semblable à celle que l'on observe parfois chez l'enfant atteint de conjonctivite diphtérique. A partir du troisième ou quatrième jour, les symptômes commencent à régresser; l'œil s'ouvre peu à peu, la sécrétion muco-purulente diminue, la conjonctivite devient de moins en moins marquée. Au bout de six à sept jours, l'œil a repris son aspect normal. C'est cette toxine que nous avons utilisée au cours de nos essais afin d'obtenir chez les animaux des phénomènes réactionnels ne pouvant prêter à confusion et à interprétation erronée.

PRODUCTION DE L'IMMUNITÉ SPÉCIFIQUE CHEZ LE LAPIN  
AU MOYEN D'INSTILLATIONS  
DE TOXINE DIPHTÉRIQUE DANS LE SAC CONJONCTIVAL.

Nous avons, dans un premier groupe d'expériences, instillé, dans la fente palpébrale de l'œil droit d'un certain nombre de lapins, à des intervalles de temps variables, une goutte de bouillon diphtérique. Dès que l'œil ainsi traité ne réagissait plus à l'instillation du poison, nous éprouvions l'autre œil par instil-

(1) Toxine titrant 40 unités antigènes



TABLEAU V.

Oeil droit		Oeil gauche		TITRE antitoxique du sérum
Date des instillations	Réaction observée	Date des instillations	Réaction observée	
Lapin n° 43-44-75 :				
10 novembre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			
15 novembre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			
21 novembre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			
27 novembre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			
3 décembre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			
8 décembre. . . .	Conjonctivite.			
11 décembre. . . .	Conjonctivite.			
18 décembre. . . .	Conjonctivite légère.	15 décembre. . . .	Conjonctivite légère.	Pas d'antitoxine appréciable.
24 décembre. . . .	Aucune réaction.	20 décembre. . . .	Conjonctivite légère.	1/30 d'unité.
		25 décembre. . . .	Aucune réaction.	1/10 d'unité.
Lapin n° 58-59-96 :				
25 septembre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			
2 octobre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			
9 octobre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			
22 octobre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			
29 octobre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			
12 novembre. . . .	Conjonctivite légère.			
21 novembre. . . .	Aucune réaction.	15 novembre. . . .	Aucune réaction.	Pas d'antitoxine appréciable.
27 novembre. . . .		21 novembre. . . .	Aucune réaction.	Pas d'antitoxine appréciable. + 1/10 d'unité. + 1/6 — 1/2 unité.
Lapin n° 65-66-69 :				
15 novembre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			
21 novembre. . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.			

14 janvier . . . . .	Conjonctivité très légère.	14 janvier . . . . .	Conjonctivité très légère.	1/20 d'unité.
15 novembre . . . . .	Conjonctivité pseudo-membraneuse.	Lapin n° 73-74-69 :		
24 novembre . . . . .	Conjonctivité pseudo-membraneuse.			
27 novembre . . . . .	Conjonctivité pseudo-membraneuse.	27 novembre	Conjonctivité. Muco-pus.	Pas d'antitoxine appréciable.
8 décembre . . . . .	Conjonctivité. Muco-pus.			
15 décembre . . . . .	Conjonctivité. Muco-pus.			
21 décembre . . . . .	Conjonctivité. Pleurs.			
24 décembre . . . . .	Conjonctivité. Pleurs.			
29 décembre . . . . .	Aucune réaction.	1 <sup>er</sup> janvier . . . . .	Aucune réaction.	1/20 d'unité. 1/10 d'unité.

lation d'une goutte de la même toxine. En outre, nous recherchions fréquemment, dans le sérum de nos lapins, l'antitoxique spécifique, et cela par des dosages chez le cobaye au moyen d'une technique dérivée de celle d'Ehrlich ou par la méthode intradermique chez un lapin neuf. On trouvera dans le tableau n° V les renseignements et les résultats concernant l'expérimentation poursuivie chez 4 lapins.

L'instillation, à intervalles plus ou moins éloignés, de quelques gouttes de toxine diphtérique (au total VI à IX gouttes) dans la fente palpébrale de l'œil chez nos lapins provoque donc l'apparition graduelle dans le sang de cet animal, de l'antitoxine spécifique et en même temps la disparition progressive de l'aptitude de la conjonctive de l'œil ainsi traité comme de l'œil non traité, à réagir à la toxine de Roux et Yersin.

Soulignons la possibilité d'obtention de l'immunité, au moyen de ce procédé et à l'aide d'une toxine très active, sans que par ailleurs l'animal souffre dans son état général, alors qu'il aurait succombé avant d'avoir pu acquérir l'immunité si la toxine au lieu d'être instillée dans le sac conjonctival avait été injectée sous la peau. En réalité, la toxine subit au moment de son absorption par la muqueuse hyperémiée, l'action des moyens de défense de l'organisme accumulés là par les phénomènes inflammatoires qu'elle provoque elle-même. Grâce à cette action des cellules ou des ferments cellulaires, la toxine est ainsi rendue plus ou moins inoffensive tout en conservant ses propriétés antigènes. Elle est en somme modifiée dans le sens d'une anatoxine avant sa pénétration dans la cir-

TABLEAU VI.

OEIL DROIT		OEIL GAUCHE		TITRE antitoxique du sérum
Date des instillations	Réaction observée	Date des instillations	Réaction observée	
16 mai . .	Conjonctivite muco-membraneuse.	16 mai . .	Conjonctivite. Pus.	Pas d'antitoxine appréciable
22 mai . .	Conjonctivite muco-membraneuse.			
26 mai . .	Conjonctivite muco-membraneuse.	26 mai . .	Conjonctivite. Pus.	
4 juin . .	Conjonctivite muco-membraneuse.			
11 juin . .	Conjonctivite muco-membraneuse.	11 juin . .	Conjonctivite. Pus.	Pas d'antitoxine appréciable
18 juin . .	Conjonctivite muco-membraneuse.			
25 juin . .	Conjonctivite muco-membraneuse.	25 juin . .	Conjonctivite. Pus.	Pas d'antitoxine appréciable
28 juin . .				
2 juillet . .	Aucune réaction.			
5 juillet . .	Aucune réaction.	5 juillet . .	Aucune réaction.	
9 juillet . .	Aucune réaction.	9 juillet . .	Aucune réaction.	+ 1/10 d'unité
12 juillet . .	Aucune réaction.	12 juillet . .	Aucune réaction.	
16 juillet . .	Aucune réaction.			1/3 d'unité.
24 juillet . .	Aucune réaction.	21 juillet . .	Aucune réaction.	
25 juillet . .	Aucune réaction.	25 juillet . .	Aucune réaction.	+ 1/3 d'unité
28 juillet . .	Aucune réaction.	28 juillet . .	Aucune réaction.	
2 août . .	Aucune réaction.			A peine 1 unité.

culation, ce qui explique dans les conditions de nos expériences l'absence d'intoxication générale, l'apparition et le développement ultérieur de l'immunité antitoxique.

*Remarquons enfin qu'il existe dans le sang une quantité appréciable d'antitoxine avant que la résistance de la conjonctive à la toxine soit complète.*

\* \*

Répétant ici encore l'expérience réalisée avec l'abrine, nous avons instillé à diverses reprises, dans les yeux de plusieurs lapins, 1 goutte de toxine diphtérique, l'œil gauche ne recevant qu'une instillation pendant que l'œil droit en reçoit deux, ainsi qu'il est indiqué dans le tableau VI, lequel enregistre ainsi les résultats de l'expérience chez l'un de nos lapins.

L'immunité a été plus lente à obtenir que dans l'expérience précédente, nous attribuons ce fait à l'emploi d'une toxine sensiblement moins active et aussi aux différences individuelles entre les animaux (1). Nous constatons, cependant, que la

(1) Qui sont parfois très accusées, comme dans toutes les expériences de ce genre. Notons que chez le lapin dont nous rapportons ci-dessus (tableau VI) l'histoire expérimentale, l'antitoxine est apparue d'emblée en assez forte quantité.



*résistance à l'instillation se manifeste en même temps au niveau de l'œil droit qui a reçu le traitement entier comme au niveau de l'œil gauche qui n'a subi qu'un demi traitement; cette résistance coïncide ici encore avec la présence de l'antitoxine spécifique dans le sang.*

\*  
\* \*

Ces constatations éclairent d'avantage encore peut-être que celles de notre premier mémoire (1) le mécanisme de l'immunité antitoxique qui fait suite à une atteinte de diphtérie. De même que le bouillon diphtérique déposé sur la conjonctive de l'animal, la toxine de Roux et Yersin élaborée à la surface de la muqueuse de l'enfant par le bacille diphtérique est absorbée à la faveur de l'inflammation qu'elle suscite elle-même. Si les moyens naturels ou artificiels de défense sont suffisants, la toxine ne provoquera chez le malade que des troubles généraux limités et engendrera dans la suite, durant la convalescence, l'immunité.

#### ABSENCE D'IMMUNITÉ CHEZ LES LAPINS

QUI REÇOIVENT DES INSTILLATIONS D'ANATOXINE DIPHTÉRIQUE  
NE PROVOQUANT AUCUNE RÉACTION DE LA CONJONCTIVE.

Dans une autre série d'expériences, trois lapins reçoivent dans le sac conjonctival de l'œil droit, des instillations de II à IV gouttes d'anatoxine diphtérique de valeur antigène relativement élevée (34 unités au centimètre cube). Les instillations sont pratiquées tous les quatre ou cinq jours et ne provoquent absolument aucune réaction oculaire. Ces trois lapins, après avoir reçu l'un 29, les deux autres 40 instillations, ne recèlent aucune trace décelable d'antitoxine dans leur sérum et l'œil traité réagit d'une façon marquée chez les trois animaux à l'instillation de toxine diphtérique.

Chez un autre lapin qui a reçu, lui aussi, des instillations d'anatoxine, le sérum contient, après 29 instillations, une quantité d'antitoxine correspondant à 1/30 d'unité antitoxique.

(1) G. RAMON et M. DJOURICHITCH, *Ces Annales, loc. cit.*

PROTOCOLE	OEIL DROIT	
	Instillation	Réaction observée
26 avril. . . . .	I goutte abrine, 1/10 + I goutte ana.	Conjonctivite
30 avril. . . . .	I goutte abrine, 1/10 + I goutte ana.	Conjonctivite
4 mai. . . . .	II gouttes abrine, 1/10 + I goutte ana.	Conjonctivite
8 mai. . . . .	II gouttes abrine, 1/10 + I goutte ana.	Conjonctivite
12 mai. . . . .	II gouttes abrine, 1/5 + I goutte ana.	Conjonctivite
16 mai. . . . .	II gouttes abrine, 1/3 + I goutte ana.	Conjonctivite
22 mai. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
26 mai. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
31 mai. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
4 juin. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
11 juin. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
16 juin. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
21 juin. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
25 juin. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
27 juin. . . . .	I goutte toxine diphtérique.	Conjonctivite
2 juillet. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
7 juillet. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
11 juillet. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
16 juillet. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
21 juillet. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
25 juillet. . . . .	I goutte abrine pure + I goutte ana.	Aucune réaction
26 juillet. . . . .	I goutte toxine diphtérique.	Conjonctivite
30 juillet. . . . .	I goutte toxine diphtérique.	Conjonctivite
2 août. . . . .	I goutte toxine diphtérique.	Conjonctivite
6 août. . . . .	II gouttes toxine diphtérique	Conjonctivite

Mais, au cours de ce traitement, ce lapin avait reçu à titre d'épreuve, tantôt dans un œil, tantôt dans l'autre, VII gouttes de toxine. C'est vraisemblablement la toxine d'épreuve qui a provoqué l'apparition de l'antitoxine.

Par ailleurs, deux lapins ont reçu dans le sac conjonctival de l'œil droit, 40 instillations de chacune II à III gouttes d'une toxine diphtérique fortement atténuée dans sa toxicité (grâce au formol); cette toxine tue le cobaye en injection sous-cutanée à la dose de 1 cent. cube, et elle ne provoque aucune réaction oculaire. Après la quarantième instillation, ces deux lapins ne réclent aucune trace d'antitoxine et l'œil traité réagit d'une façon marquée, chez l'un comme chez l'autre animal, à l'épreuve réalisée au moyen d'une goutte de toxine diphtérique de pouvoir toxique élevé.

OEIL GAUCHE		TITRE ANTITOXIQUE DU SÉRUM	
Instillation	Réaction observée	Quantité de sérum neutralisant 1/30 c. c. d'abrine	Antitoxine diphthérique en unité antitoxique
		Pas trace d'anti-abrine.	0
tte abrine pure.	Aucune réaction.	1/2 cent. cube.	0
		1/3 cent. cube.	0
		1/3 cent. cube.	0
tte abrine pure.	Aucune réaction.	1/3 cent. cube.	0
		1/3 cent. cube.	1/30 d'unité.
toxine diphthérique.	Conjonctivite.	1/3 cent. cube.	1/30 d'unité.
toxine diphthérique.	Conjonctivite légère.	1/3 cent. cube.	1/20 d'unité.
toxine diphthérique.	Aucune réaction.		1/20 d'unité.
s toxine diphthérique.	Aucune réaction.		

*L'antigène qui ne provoque pas de lésions de la conjonctive se révèle donc incapable de pénétrer dans l'organisme par la voie conjonctivale et de faire naître l'immunité (1).*

IMMUNISATION PAR INSTILLATIONS D'ANATOXINE DIPHTHÉRIQUE  
 ADDITIONNÉE DE SUBSTANCES IRRITANTES, SPÉCIFIQUES (ABRINE)  
 OU NON SPÉCIFIQUES (BILE).

Les expériences précédentes ayant montré que l'absence d'immunité chez les lapins qui reçoivent des instillations d'ana-

(1) Nous citerons ici incidemment des expériences entreprises à l'aide de la toxine et de l'anatoxine tétaniques et dont les résultats confirment pleinement ceux que nous venons de faire connaître ci-dessus.

La toxine et l'anatoxine tétaniques instillées dans le sac conjonctival, à



PROTOCOLE	OÏL DROIT	
	Instillations	Réaction observée
3 novembre. . .	I goutte bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
7 novembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
12 novembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
19 novembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
24 novembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
28 novembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
3 décembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
8 décembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
11 décembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
15 décembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
19 décembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
24 décembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
27 décembre. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
2 janvier. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
7 janvier. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
10 janvier. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
14 janvier. . .	II gouttes bile + 1 goutte ana. diphtér.	Conjonctivite marquée
18 janvier. . .		

toxine diphtérique, est en relation étroite avec l'absence de toute réaction au niveau de la muqueuse conjonctivale, nous avons eu l'idée de provoquer cette réaction en ajoutant à l'antigène des substances irritantes telles que l'abrine, la bile par exemple.

Un lapin reçoit (tableau VII), tous les quatre ou cinq jours, dans l'œil droit, II gouttes d'un mélange à parties égales d'anatoxine diphtérique et de macération d'abrine diluée ou pure, ce mélange provoque au niveau de l'œil la réaction inflammatoire cherchée : conjonctivite avec sécrétion purulente.

raison de une ou plusieurs gouttes, ne laissent absolument aucune trace de leur passage sur la muqueuse. Des lapins ont reçu un grand nombre d'instillations (une trentaine au minimum), soit de toxine, soit d'anatoxine; l'antitoxine n'a pu être décelée dans leur sérum. Notons, d'ailleurs, qu'à aucun moment les animaux qui ont reçu les instillations de toxine tétanique n'ont présenté de signes d'intoxication tétanique générale. Nous avons donc là une double preuve de l'absence de pénétration de l'antigène dans l'organisme qui, dans ces conditions, ne saurait acquérir l'immunité.

Des essais d'immunisation du lapin à l'aide d'instillations de solution de venin d'aspis ou de cobra ont échoué. Ici encore, les solutions même concentrées de venin ne provoquaient que des réactions nulles ou à peine marquées et cela contrairement à l'opinion courante.

OEIL GAUCHE		TITRE ANTITOXIQUE du sérum
Instillations	Réaction observée	
2-19 :		
ette toxine diphtérique.	Aucune réaction.	Pas trace d'antitoxine. Pas trace d'antitoxine.  Pas trace d'antitoxine.  $\frac{1}{30}$ d'unité. $+ \frac{1}{30} - \frac{1}{10}$ d'unité.

On voit à l'examen du tableau VII, qu'après 16 instillations du mélange anatoxine diphtérique + abrine le sérum du lapin traité de cette façon renferme une proportion d'antitoxine diphtérique correspondant à  $\frac{1}{30}$  d'unité antitoxique.

*A la faveur de l'inflammation locale créée par l'abrine, l'anatoxine a pu être absorbée par la conjonctive et pénétrer dans l'organisme, alors qu'instillée seule, elle ne provoque aucune effraction de la muqueuse conjonctivale et n'est pas absorbée. En outre, les phénomènes d'inflammation déclenchés à la porte d'entrée par la toxine végétale ont favorisé le développement ultérieur de l'immunité due à l'anatoxine diphtérique.*

Nous retrouvons là l'influence, mise en évidence par l'un de nous, de l'addition de certaines substances à l'antigène (tapioca, chlorure de calcium, lanoline, etc.). Nous retrouvons là également le principe des vaccinations associées établi avec Chr. Zoeller. D'ailleurs, notre lapin qui, en réalité, a reçu par la voie oculaire le vaccin associé « anatoxine diphtérique + abrine », recèle dans son sérum, à côté de l'antitoxine diphtérique, l'anti-abrine.

\*  
\* \*

Dans le même domaine expérimental, nous avons réalisé d'autres essais en associant l'anatoxine diphtérique à la bile de bœuf qui produit une irritation marquée de la conjonctive.

Deux lapins reçoivent tous les quatre à cinq jours, dans l'œil droit, III gouttes d'un mélange composé de I goutte d'anatoxine diphtérique et de II gouttes de bile.

Le tableau VIII indique les détails et les résultats de l'un de nos essais.

Après 17 instillations, dans l'œil droit, du mélange anatoxine diphtérique + bile, l'œil gauche ne réagit plus à l'instillation de toxine diphtérique et le taux antitoxique du sérum du lapin ainsi traité dépasse  $1/30$  d'unité. La bile a joué ici le rôle rempli par l'abrine dans l'expérience précédente : *l'irritation produite par cette substance a permis l'absorption de l'antigène par la conjonctive, sa pénétration dans l'organisme, et l'apparition et le développement ultérieur de l'immunité* (1).

RÉSISTANCE OCULAIRE VIS-A-VIS DE L'INTOXICATION DIPHTÉRIQUE,  
OBTENUE PAR IMMUNISATION GÉNÉRALE ACTIVE OU PASSIVE,  
L'ANATOXINE OU L'ANTITOXINE SPÉCIFIQUES  
ÉTANT INTRODUITES PAR LA VOIE SOUS-CUTANÉE.

A la lueur des faits déjà exposés il semble de plus en plus évident que l'immunité, obtenue par instillation de l'antigène diphtérique (toxine seule ou anatoxine additionnée de substances irritantes) dans le sac conjonctival et décelée à ce niveau, ne diffère pas dans sa nature de celle qui fait suite à l'introduction de l'antigène sous la peau, par exemple. Nous allons en fournir des preuves nouvelles.

Un certain nombre de lapins ont été immunisés par injection sous-cutanée d'antigène diphtérique. Dès que leur sang était

(1) Des expériences semblables ont été réalisées au moyen d'anatoxine tétanique, additionnée de bile. Nous avons vu qu'avec l'anatoxine tétanique seule, on n'arrive pas à produire l'immunité par voie conjonctivale, cette voie demeurant fermée au passage de l'anatoxine. L'addition de bile, en créant une inflammation locale et une porte d'entrée à l'antigène anatoxique, permet d'obtenir l'immunité antitoxique spécifique après, il est vrai, un grand nombre d'instillations de ce genre.



suffisamment riche en antitoxine (au moins 1/10 d'unité par centimètre cube) on les éprouvait par instillation dans l'œil de 1 goutte de toxine diphtérique de pouvoir toxique élevé.

Les résultats de ces essais sont enregistrés dans le tableau n° IX.

TABLEAU IX.

NUMÉROS des lapins	RÉACTION DE L'ŒIL	TITRE DU SÉRUM
<i>Lapins immunisés :</i>		
1 . . . . .	Aucune réaction.	+ 1/10 — 1/3 d'unité.
2 . . . . .	Aucune réaction.	1/3 d'unité.
3 . . . . .	Aucune réaction.	1/3 d'unité.
4 . . . . .	Aucune réaction.	+ 1/3 — 1 unité.
5 . . . . .	Aucune réaction.	+ 3 — 10 unités.
6 . . . . .	Aucune réaction.	+ 3 — 10 unités.
7 . . . . .	Conjonctivite très légère.	+ 1/10 — 1/3 d'unité.
<i>Témoins :</i>		
9 . . . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.	
10 . . . . .	Conjonctivite pseudo-membraneuse.	

L'examen de ce tableau permet de se rendre compte que, chez les lapins vaccinés par voie sous-cutanée au moyen de l'antitoxine diphtérique, l'instillation dans le sac conjonctival d'une toxine active ne provoque aucune réaction à condition toutefois que l'antitoxine spécifique atteigne dans le sang un taux suffisant.

\*  
\* \*

A trois lapins on injecte, le 6 novembre, sous la peau du ventre, respectivement 1/2 cent. cube, 1 cent. cube et 2 cent. cubes de sérum antidiphtérique (350 unités antitoxiques au centicube). Quatre jours plus tard, ces animaux reçoivent, dans l'œil droit, 1 goutte de toxine diphtérique. Aucun d'eux ne présente de réaction, même légère. Le seizième jour après l'injection de sérum, ces lapins sont saignés et l'œil gauche est éprouvé au moyen de 1 goutte de toxine diphtérique. Les 3 lapins présentent cette fois une forte réaction oculaire avec conjonctivite marquée et écoulement muco-purulent; leur sérum ne récite alors aucune trace d'antitoxine.

Deux autres lapins reçoivent, le 9 janvier, également sous

la peau du ventre, 1 cent. cube de sérum antidiphthérique (350 unités antitoxiques au centimètre cube). Le surlendemain ces lapins sont éprouvés dans l'œil droit (instillation de 1 goutte de toxine diphthérique) et dans la peau (injections intra-cutanées de 2/10 de centimètre cube de dilutions de toxine diphthérique aux 1/10.000, 1/5.000 et 1/2.000). Ils ne présentent aucune réaction, ni oculaire, ni cutanée. Un lapin neuf témoin présente encore une petite escarre au point d'injection de 2/10 de centimètre cube d'une dilution au 1/25.000 de la même toxine diphthérique.

Le 28 janvier leur sérum ne contenant aucune trace d'antitoxine décelable, ces lapins sont éprouvés de nouveau par voie oculaire (instillation dans l'œil gauche de 1 goutte de toxine diphthérique) et par voie cutanée (injections intra-cutanées de 1/10 de centimètre cube de dilutions de toxine diphthérique aux 1/20.000, 1/15.000, 1/10.000, 1/5.000). Ils présentent alors une forte réaction oculaire avec conjonctivite marquée et écoulement muco-purulent et une réaction cutanée (œdème, puis escarre) au point d'injection de chaque dilution de toxine.

Ainsi, chez les lapins immunisés passivement à l'aide d'une injection sous-cutanée de sérum antidiphthérique, l'instillation de toxine dans le sac conjonctival ne fait apparaître aucune réaction aussi longtemps que le sérum de ces animaux recèle de l'antitoxine spécifique en proportion suffisante, mais dès que l'antitoxine se raréfie ou a disparu, la sensibilité de l'œil à la toxine réapparaît.

Ces expériences montrent bien le caractère très passager de l'immunité passive en regard de l'épreuve oculaire. L'expérience qui suit va nous permettre de bien marquer, dans le domaine qui nous occupe, toute la différence qui existe entre l'immunité passive et l'immunité active (1).

#### DURÉE DE LA RÉSISTANCE DE LA CONJONCTIVE

##### A L'INTOXICATION DIPHTHÉRIQUE

##### CHEZ LES LAPINS IMMUNISÉS PAR DES INSTILLATIONS DE TOXINE.

A la suite d'un certain nombre d'instillations, de chacune 1 goutte de toxine diphthérique, dans l'œil droit du lapin

(1) Voir à ce propos les essais récents de D'Antona et Valensin. *La Pediatria*, fasc. 1, 1935, XIII.

n<sup>os</sup> 56, 57 — 36, le sérum de cet animal contient le 11 janvier une quantité suffisante d'antitoxine pour que l'épreuve conjonctivale pratiquée ce même jour au moyen de I goutte de toxine se montre négative dans les deux yeux. Après une série de saignées successives le sérum de ce lapin ne recèle plus, le 11 février, de trace appréciable d'antitoxine. Or, malgré cette raréfaction de l'antitoxine dans le sang, l'instillation de I goutte de toxine diphtérique dans l'œil primitivement traité comme dans l'autre œil, ne provoque pas de réaction nette. Il faut instiller III gouttes de toxine dans chaque œil pour déclencher une double conjonctivite avec exsudats muco-purulents (1). De plus, au même moment, des injections intradermiques de  $1/50.000$ ,  $1/20.000$ ,  $1/10.000$  de centicube de toxine ne provoquent que des réactions faibles, nettement moins marquées que chez l'animal neuf.

Nous assistons ici au processus inverse de celui qui caractérise le début de l'immunité acquise par instillations de toxine dans le sac conjonctival. A ce début, en effet, l'antitoxine apparaît dans le sang avant que se manifeste la résistance complète de la conjonctive à l'intoxication. Chez notre lapin, au contraire, l'antitoxine est disparue de la circulation et cependant la réaction au niveau de la conjonctive et de la peau est peu marquée. Il semble que l'antitoxine étant disparue du sang, elle persiste encore en partie dans certains tissus, d'où la résistance relative de la muqueuse conjonctivale et du revêtement cutané à l'égard de l'intoxication diphtérique. Ceci explique, à notre avis, que dans certains cas assez rares, il est vrai, l'épreuve de Schick chez l'homme peut être négative alors que le taux d'antitoxine humorale est inférieur à  $1/30$  d'unité.

\*  
\* \*

*De ces expériences réalisées au moyen de la toxine diphtérique (ou de ses dérivés) instillée dans le sac conjonctival, chez le lapin, nous pouvons retenir un certain nombre de constatations.*

(1) Le taux de l'antitoxine du sérum est remonté rapidement après les nouvelles instillations de toxine. En effet le 16 février le sérum recélait près de  $1/20$  d'unité, le 23 février  $> 1/10 < 1/3$  d'unité et à cette date ni l'œil droit, ni l'œil gauche ne réagissent à l'instillation de toxine diphtérique (III gouttes).



Tout d'abord, une ou plusieurs instillations de toxine ne confèrent à la muqueuse conjonctivale aucune résistance particulière à l'égard de l'action toxique qu'une nouvelle instillation est capable d'exercer sur cette muqueuse. Il n'y a pas d'immunisation « locale » au sens de Besredka. Et pourtant, les instillations ne provoquent-elles pas au niveau de la conjonctive, des phénomènes de congestion, d'inflammation au moins aussi intenses, que la simple friction de la muqueuse vaginale avec une spatule, friction qui, selon Besredka et Urbain, suffit à entraîner « l'immunité antidiphthérique locale non spécifique » de cette muqueuse.

Mais, si, de prime abord, les instillations ne provoquent pas l'immunité « locale » de la muqueuse conjonctivale touchée par le bouillon toxique, elles instaurent peu à peu, comme nos expériences l'établissent, l'immunité « générale » qui se manifeste par l'apparition en quantité progressivement croissante de l'antitoxine spécifique dans le sang et, par la résistance à l'intoxication diphthérique, aussi bien de la conjonctive non traitée que de la conjonctive traitée par la toxine de Roux et Yersin. Faisons observer que cette résistance spécifique peut être également la conséquence de l'immunité générale, soit active soit passive, provoquée, la première, qui est durable, par l'injection sous-cutanée d'anatoxine diphthérique; la seconde, qui est fugace, par l'administration de sérum antidiphthérique.

Une autre constatation qui résulte de nos expériences c'est celle de l'importance, pour l'apparition ultérieure de l'immunité, de l'action qu'exerce l'antigène, suivant sa nature, sur la muqueuse qui le reçoit lors des instillations. L'antigène est-il représenté par un échantillon de toxine très active qui provoque des altérations de la conjonctive et des tissus sous-jacents, il pénètre en quelque sorte par effraction dans l'organisme pour engendrer la production d'antitoxine; en diffusant peu à peu à travers la conjonctive et les tissus sous-jacents hyperémiés, il subit là l'influence des moyens d'action de l'organisme dont il a lui-même suscité l'entrée en jeu et il est, avant de pénétrer dans la circulation générale, plus ou moins amoindri dans sa nocivité première. L'antigène est-il, par contre, sous sa forme anatoxique, qui laisse indemne la muqueuse sur laquelle on le dépose, il ne peut avoir accès dans l'organisme, il est donc dans l'impossibilité d'exercer sa fonction immunisante. Il en est de

*même d'une toxine qui par sa nature n'a aucune action sur la muqueuse conjonctivale (toxine tétanique). Apporte-t-on une aide à l'antigène anatoxique en lui associant une substance toxique comme l'abrine, ou irritante comme la bile, alors il réussira grâce à cette aide à forcer au bout d'un temps plus ou moins long la porte d'entrée de l'organisme qu'il franchira pour aller déclencher l'apparition de l'antitoxine et le développement de l'immunité antitoxique.*

*Fait encore digne de remarque, lorsque grâce à l'immunité antitoxique générale, la conjonctive est devenue réfractaire à l'intoxication diphtérique, le taux d'antitoxine du sang ne s'accroît plus d'une façon aussi sensible qu'auparavant; souvent même il demeure stationnaire malgré les instillations renouvelées de toxine. C'est que la toxine diphtérique n'a plus guère de prise sur la muqueuse conjonctivale qui, devenue maintenant résistante, se laisse difficilement attaquer et franchir.*

### III. — EXPÉRIENCES RÉALISÉES AVEC LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE

Les recherches poursuivies durant ces dernières années ont permis de mettre de nouveau en évidence dans les filtrats de culture du staphylocoque, la présence d'une véritable toxine qui avait déjà été signalée dans des travaux plus anciens (1). Ces recherches ont, en outre, conduit à l'obtention de bouillons staphylococciques de plus en plus toxiques.

En possession d'une toxine staphylococcique particulièrement active (échantillon n° 64), nous avons étudié en premier lieu l'effet qu'elle produit lorsqu'elle est instillée dans le sac conjonctival chez le lapin (2).

#### ACTION DE LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE SUR L'ŒIL DU LAPIN NEUF.

La toxine dont nous nous sommes servis est douée d'un pouvoir toxique relativement élevé. Elle a été obtenue à partir d'un bouillon dont la formule a été donnée par l'un de nous

(1) On trouvera la bibliographie de cette question dans un mémoire récemment paru : P. NÉLIS. *Ces Annales*, 52, 1934, p. 597.

(2) Voir notre note préliminaire : G. RAMON, P. NÉLIS et R. RICHOU. *C. R. Soc. de Biol.*, 178, 1933, p. 738.

pour la préparation de la toxine diphtérique (1). Dans cette formule, l'acétate de sodium est supprimé pour la préparation de la toxine staphylococcique. En injection intraveineuse, le filtrat staphylococcique que nous avons utilisé tue le lapin de 2 kilogrammes, en dix minutes, à la dose de 0 c. c. 4. En injection intramusculaire, une dose de 0 c. c. 5 tue le lapin en trente-six à quarante-huit heures. Sa dilution au 1/100, injectée sous le volume de 1/10 de centimètre cube dans le derme de cet animal provoque l'apparition d'une large escarre. La dose minima hémolytique est de 0 c. c. 0005.

L'instillation d'une goutte de cette toxine dans l'œil du lapin provoque une conjonctivite relativement faible. L'instillation de III gouttes (dose que nous avons le plus souvent employée dans nos expériences) est suivie, vers la septième heure, d'une légère réaction inflammatoire qui s'accroît au bout de quelques heures, s'accompagnant alors de larmoiement et de sécrétion muco-purulente; vingt-quatre heures après l'instillation, les symptômes oculaires sont les suivants : conjonctivite plus ou moins intense, mais toujours marquée, petits flocons de muco-pus sur les bords palpébraux, filets muco-purulents s'écoulant par la fente palpébrale. Au bout de quarante heures, la conjonctivite est moins marquée, elle diminue progressivement d'intensité, et, en général, vers le troisième ou le quatrième jour, l'œil reprend son aspect normal.

D'autres filtrats staphylococciques, d'un pouvoir toxique moindre, nous ont donné des réactions beaucoup moins marquées. Or, pour ce genre d'expériences, il est indispensable d'obtenir des réactions nettes. Il faut tenir compte, ici plus encore peut-être que dans les essais avec l'abrine ou la toxine diphtérique, des différences individuelles entre les animaux, d'où il peut résulter que certaines réactions faibles, visibles chez les uns, passent inaperçues chez les autres.

C'est parce qu'ils ne possédaient qu'une toxine très faible (elle tuait le lapin à la dose de 5 cent. cubes) que Morax et Elmassian (2) étaient dans l'obligation d'effectuer des instillations pendant des heures pour obtenir des lésions comparables à celles que nous avons observées.

(1) G. RAMON. *C. R. Soc. de Biol.*, 112, 1933, p. 8.

(2) MORAX et ELMASSIAN. *Loc. cit.*



TABLEAU X.

DATE des instillations	Oeil DROIT		Oeil GAUCHE		QUANTITÉ DE SÉRUM neutralisant 1/25 c. c. de toxine
	Doses	Réactions	Doses	Réactions	
Lapin n° 96-97-29 :					
8 janvier. . . . .	II gouttes.	Conjonctivite marquée.			Pas d'antitoxine appréciable 4 cent. cubes. 2 cent. cubes. 1 cent. cube.
41 janvier. . . . .	II gouttes.	Conjonctivite marquée.			
15 janvier. . . . .	II gouttes.	Conjonctivite Pleurs.			
19 janvier. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite. Muco-pus.			
22 janvier. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite. Muco-pus.			
26 janvier. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite. Muco-pus.			
28 janvier. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite. Muco-pus.			
3 février. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite. Muco-pus.			
8 février. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite légère.	III gouttes.	Conjonctivite légère.	
11 février. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite légère.			
Lapin n° 96-97-33 :					
12 janvier. . . . .	I goutte.	Conjonctivite. Sérosité.			Pas d'antitoxine appréciable 1/10 cent. cube. 1/10 cent. cube. 1/20 cent. cube.
15 janvier. . . . .	II gouttes.	Conjonctivite. Sérosité.			
19 janvier. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite. Pus.			
22 janvier. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite. Pus.			
26 janvier. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite. Sérosité.			
28 janvier. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite. Sérosité.			
1 <sup>er</sup> février. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite légère.			
4 février. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite très légère.			
8 février. . . . .	III gouttes.	Conjonctivite très faible.	III gouttes.	Conjonctivite faible. Conjonctivite très faible.	
15 février. . . . .	III gouttes.	Aucune réaction.	III gouttes.	Aucune réaction.	
19 février. . . . .	III gouttes.	Aucune réaction.			
23 février. . . . .	III gouttes.	Aucune réaction.			

PRODUCTION DE L'IMMUNITÉ, CHEZ LE LAPIN,  
AU MOYEN D'INSTILLATIONS DE TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE  
DANS LE SAC CONJONCTIVAL.

Désirant confirmer les résultats que nous avons obtenus avec l'abrine et la toxine diphtérique, nous avons instillé dans l'œil droit d'un certain nombre de lapins, la toxine staphylococcique n° 64 capable de provoquer au niveau de la conjonctive les réactions inflammatoires que nous venons de décrire.

Les instillations ont lieu tous les trois ou quatre jours. A un moment donné, après avoir constaté une diminution d'intensité de la réaction de l'œil droit qui reçoit les instillations, nous éprouvons l'œil gauche avec la même toxine. Nous pratiquons, en outre, chez nos lapins, avant chaque nouvelle instillation, des saignées d'épreuve afin de rechercher et de doser l'antitoxine spécifique, par la méthode intradermique, chez un lapin neuf. Nous avons également effectué, chez les lapins traités, des épreuves directes d'immunité au moyen d'injections intracutanées de dilutions de la toxine n° 64.

Voici, avec divers renseignements, les résultats obtenus chez deux de nos lapins (tableau X).

Ainsi, le premier lapin présente une conjonctivite très marquée (avec muco-pus), malgré que son sérum se révèle déjà antitoxique, très faiblement il est vrai. L'absence de toute réaction de la conjonctive, dans l'œil traité comme dans l'œil non traité, requiert un pouvoir antitoxique relativement élevé du sérum (second lapin). Ce phénomène est peut-être plus marqué encore, ici, que dans le cas de l'abrine ou dans celui de la toxine diphtérique.

Les épreuves intracutanées directes que nous avons pratiquées chez les mêmes lapins ont montré que, chez le premier, l'injection de 0,1 centicube des dilutions au 1/100, au 1/50, au 1/30<sup>e</sup> est suivie de l'apparition d'un œdème plus ou moins marqué; une escarre fait suite à l'injection de 0 c. c. 1 de la dilution au 1/10<sup>e</sup>. Chez le second lapin, seule l'injection de 0 c. c. 1 de toxine pure provoque l'apparition d'une escarre; l'injection de la dilution de toxine au 1/10<sup>e</sup> est suivie de la formation d'un petit œdème; l'injection des dilutions au 1/50<sup>e</sup>,

TABLEAU XI.

DATE des instillations	OEIL DROIT		OEIL GAUCHE		QUANTITÉ de sérum neutralisant 1/25 c. c. de toxine
	Doses en gouttes	Réactions	Doses en gouttes	Réactions	
9 janvier.	II	Conjonctivite marquée.	II	Conjonctivite.	Antitoxine inappréciable.  2/3 cent. cube.  4/3 cent. cube.
12 janvier.	II	Conjonctivite.			
15 janvier.	II	Conjonctivite.			
19 janvier.	III	Conjonctivite.	III	Conjonctivite.	
22 janvier.	III	Conjonctivite.			
26 janvier.	III	Conjonctivite peu marquée.			
1 <sup>er</sup> février.	III	Conjonctivite légère.	III	Conjonctivite peu marquée.	
4 février.	III	Conjonctivite. Pleurs.			
8 février.	III	Conjonctivite légère.			

au 1/30<sup>e</sup> ne donne aucune réaction. Enfin, d'après le dosage par la méthode hémolytique, le titre du sérum est, pour le premier lapin, de 0,35 unité et pour le deuxième de 3 unités 5.

Ces expériences illustrent bien *la correspondance qui existe entre les résultats des épreuves conjonctivale et dermique et la valeur antitoxique du sérum.*

On remarquera les différences individuelles qui peuvent exister entre les animaux dans l'acquisition de l'immunité antistaphylococcique, et cela, nous le savons, n'est pas spécial à cette immunité non plus qu'à la voie d'introduction de l'antigène.

Ajoutons qu'une toxine staphylococcique plus faible que celle dont nous nous sommes habituellement servis n'a pas provoqué l'apparition de l'immunité chez deux lapins après 15 instillations de III gouttes chacune dans l'œil droit de ces animaux. De même que l'anatoxine diphtérique, de même encore que la toxine diphtérique atténuée, cette toxine staphylococcique faible ne provoquant aucune altération visible de la conjonctive, « n'entre » pas dans l'organisme et ne peut donner lieu par conséquent à la production d'antitoxine et à l'apparition de l'immunité antitoxique.

\*  
\* \*

Répétant ici encore l'expérience réalisée avec l'abrine et la toxine diphtérique, nous avons instillé, à diverses reprises, dans l'œil droit de plusieurs lapins, III gouttes de toxine sta-



phylococcique, l'œil gauche recevant une instillation sur deux.

Nous avons résumé, dans le tableau XI, les conditions de l'une des expériences de cette série, avec ses résultats.

Les épreuves intracutanées directes pratiquées chez le lapin (le 4 février) montrent que l'injection intradermique de 1/10 de centimètre cube des dilutions au 1/100, au 1/50, au 1/30 ne donne aucune réaction; une escarre fait suite à l'injection de 1/10 de centimètre cube de la dilution au 1/10. En outre, d'après le dosage par la méthode hémolytique, le titre du sérum est de 0,75 unité.

IMMUNISATION PAR LA VOIE SOUS-CUTANÉE  
ET RÉSISTANCE DE L'ŒIL  
AUX INSTILLATIONS DE TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE.

Deux lapins reçoivent sous la peau du ventre chacun 2 cent. cubes d'un mélange contenant 2 grammes de lanoline, 2 cent. cubes de toxine staphylococcique et 4 grammes d'huile. Trois semaines plus tard, ces lapins reçoivent une seconde injection de 4 cent. cubes d'un mélange composé de la même façon. Quinze jours après cette dernière injection, on pratique chez ces animaux une saignée d'épreuve. Un dosage d'antitoxine staphylococcique est effectué et montre que 1 centicube de sérum des lapins ainsi traités neutralise plus de 0 c. c. 04 d'une toxine staphylococcique de pouvoir toxique élevé. Ce sérum titre 0,75 unité.

L'instillation dans l'œil de chacun de ces lapins de III gouttes de toxine staphylococcique ne provoque aucune réaction, alors que l'instillation de la même dose dans l'œil d'un lapin neuf est suivie d'une conjonctivite marquée avec exsudat mucopurulent.

\*  
\*  
\*

Certaines remarques particulières s'imposent ici.

*Par instillations de toxine staphylococcique dans le sac conjonctival, nous avons réussi à obtenir, chez nos lapins, l'immunité spécifique. Quelle est donc la nature de cette immunité?*

*Notre bouillon staphylococcique n'est autre qu'un filtrat provenant d'une culture de staphylocoques âgée de huit à dix jours.*

*Il devrait contenir, de par son mode de préparation, « l'antivirus » de Besredka. Suivant la conception de notre savant collègue le bouillon staphylococcique devrait donc, à double titre — comme toxine et comme antivirüs — immuniser les cellules réceptives; « son action immunisante devrait être immédiate et limitée aux cellules avec lesquelles il entre en contact direct » (1). Or, rien de tel ne ressort de nos observations. D'après nos expériences, en effet, le mécanisme de l'immunité obtenue dans les conditions indiquées est tout autre que le veulent la conception du mode d'action des « antivirüs » et la théorie de « l'immunité locale ». Une première, une seconde instillation de bouillon staphylococcique ne confèrent aucune immunité aux cellules de la conjonctive vis-à-vis des instillations ultérieures. Il faut toute une série d'instillations répétées à plusieurs jours d'intervalle et durant un temps plus ou moins long pour que la conjonctive traitée acquière finalement l'état réfractaire en même temps d'ailleurs que la conjonctive non traitée. Cet état n'est ni immédiat ni primitif. Il suit l'apparition de l'antitoxine spécifique dans le sang de l'animal soumis aux instillations de filtrat de culture staphylococcique.*

*Ces résultats, acquis dans le domaine de l'immunité antistaphylococcique, outre l'intérêt qu'ils présentent en eux-mêmes, confirment en tous points ceux que nous avons obtenus en expérimentant avec la toxine diphtérique, avec l'abrine.*

### Conclusions.

A l'issue de chaque chapitre, nous avons résumé et commenté les résultats de nos expériences. Il ne nous reste qu'à formuler des conclusions générales ayant trait au mécanisme et à la nature de l'immunité produite chez le lapin par instillations au niveau de la conjonctive de divers antigènes.

Ces conclusions découlent directement de l'ensemble de nos recherches. Nos essais exécutés dans des conditions comparables, mais dans des domaines différents de l'immunité antitoxique, aboutissent à des résultats entièrement superposables. Cette concordance des résultats rehausse encore leur valeur démonstrative.

(1) Voir BESREDKA : « Antivirusthérapie », chap. I, p. 2.

*Quel que soit l'antigène utilisé dans nos essais et instillé dans le sac conjonctival — que ce soit l'abrine, le bouillon diphtérique ou le filtrat staphylococcique — cet antigène, par ses propriétés plus ou moins toxiques et irritantes, déclenche, au niveau de la conjonctive, des phénomènes de congestion et d'inflammation qui vont favoriser son absorption.*

*En outre, l'antigène toxique se trouve soumis, avant son passage dans la circulation générale, à l'influence de ces phénomènes inflammatoires qu'il suscite lui-même et qui concentrent à la porte d'entrée certains des moyens d'action de l'organisme. Il subit là des modifications qui altèrent sa nocivité tout en lui conservant sa qualité immunisante. Cela se produit d'ailleurs que l'antigène soit instillé au niveau de la conjonctive, qu'il soit appliqué sur la peau rasée et épilée, comme dans des essais antérieurs, ou bien encore qu'il soit, comme dans des expériences actuellement poursuivies, injecté sous la peau après son enrobage dans la lanoline.*

*L'antigène étant ainsi modifié et rendu naturellement « anatoxique » lors de son absorption, peut pénétrer dans l'intérieur de l'organisme sans y causer de dommage; il y provoque la formation de l'antitoxine spécifique, qui, à un moment donné, apparaît dans le sang, en faible quantité d'abord, puis en proportion de plus en plus forte. Transportée par la circulation jusqu'à la muqueuse conjonctivale, l'antitoxine lui confère peu à peu la résistance vis-à-vis de l'intoxication spécifique. Cette même résistance peut être également conférée à la conjonctive par l'antitoxine dont l'antigène, transformé artificiellement en anatoxine, et injecté sous la peau, entraîne l'apparition, selon un processus analogue, processus général et intime et non pas seulement localisé à la porte d'entrée.*

*Ainsi, pas plus que la résistance que nous constatons au niveau de la peau rasée et soumise antérieurement aux applications de la toxine diphtérique, celle que nous décelons à un moment donné au niveau de la conjonctive qui a reçu des instillations répétées d'abrine, ou de bouillon diphtérique ou de filtrat staphylococcique, n'est le fait d'une immunité locale, primitive et autonome. Elle est la conséquence et l'une des manifestations de l'immunité antitoxique de source intime.*

*En réalité, quelle que soit sa voie d'accès, voie conjonctivale,*



*transcutanée, sous-cutanée, etc., quelle que soit la forme qu'il revêt, qu'il s'agisse de la toxine elle-même ou de son dérivé anatoxique, l'antigène parvenant au sein de l'organisme engendre la formation de l'antitoxine spécifique, laquelle réalise, grâce à sa dispersion par la circulation sanguine, l'immunité antitoxique générale ou, plus simplement, l'immunité antitoxique spécifique.*

# **INOCULATIONS OCULAIRES EXPÉRIMENTALES DES DIFFÉRENTES SOUCHES DE BACILLES TUBERCULEUX**

par V. MORAX et M. NIDA.

*(Laboratoire de recherches sur la tuberculose  
à l'Institut Pasteur.)*

Sur le conseil de notre regretté ami Calmette, nous avons poursuivi depuis plusieurs années l'étude expérimentale des lésions oculaires produites par l'inoculation de cultures de bacilles tuberculeux de diverses origines, et plus récemment l'effet des variétés dissociées R et S de ces mêmes bacilles. Ces recherches avaient pour but, d'une part, l'analyse précise de l'évolution des lésions et le contrôle de certaines affirmations contradictoires concernant notamment l'action du BCG. Elles devaient, d'autre part, nous permettre de voir si l'effet de prémunition du BCG à l'égard d'une souche bovine virulente pouvait être démontré sur l'œil du lapin.

Notre mémoire comportera donc plusieurs chapitres distincts précédés par quelques indications relatives à la technique suivie pour l'inoculation des différentes souches dans les lames de la cornée, dans la chambre antérieure, dans la région rétrociliaire ou dans le corps vitré.

## **Technique.**

Les émulsions bacillaires ont toujours été faites en partant de cultures sur pomme de terre de trois à quatre semaines et dont il était prélevé une quantité exactement déterminée à l'aide d'une spatule de platine calibrée. Celle-ci était introduite dans un ballon contenant des billes de verre stériles avec 1 cent. cube de solution physiologique. Le ballon était agité pendant cinq à dix minutes pour dissocier les colonies bacil-

lares. Cette dissociation faite, on ajoutait progressivement la quantité de solution physiologique stérile pour parfaire 100 cent. cubes. Pour obtenir les dilutions que l'on désirait utiliser, il suffisait de prélever avec la pipette graduée stérile  $1/10$  ou 1 cent. cube, et de la mélanger avec la quantité d'eau physiologique nécessaire pour obtenir des émulsions au  $1/10.000$  ou au  $1/100.000$ . Pour la tuberculose virulente, nous avons utilisé une émulsion dont 1 cent. cube renfermait  $1/100.000$  de milligramme de bacilles et dont nous injectons  $1/10$  ou  $1/20$  de centimètre cube.

En raison des minimes quantités de liquide à injecter, il importe de faire usage de seringues bien calibrées. Nous nous sommes servis de la seringue de verre dite de Barthélemy ou de la seringue Norma avec le dispositif inventé par Bretey pour limiter la course du piston et injecter les petites quantités voulues (1). On se servira de très fines aiguilles de 1 centimètre de longueur.

L'animal à inoculer (lapin ou cobaye) est placé dans une boîte dont la petite ouverture ne laisse sortir que la tête. On instille une goutte de collyre de chlorhydrate de cocaïne à 3 p. 100 stérile, puis après deux minutes on fait un lavage de la cavité conjonctivale avec la solution physiologique stérile de chlorure de sodium.

Le globe étant immobilisé à l'aide d'une pince à fixation droite qui saisit la conjonctive et le tissu épiscléral à quelques millimètres du limbe, il est facile de procéder à l'injection.

Pour l'injection intracornéenne l'aiguille doit cheminer tangentiellement à la cornée et entre les lames de celle-ci. L'emploi d'une loupe binoculaire peut être utile si l'on n'a pas l'habitude de ces injections. La pénétration intralamellaire du liquide donne lieu à un léger soulèvement et à la formation d'un disque de coloration porcelanée. En poussant le liquide lentement, on réussit facilement à faire pénétrer  $1/20$  ou même  $1/10$  de centimètre cube entre les lames de la cornée, à la condition que l'animal n'agite pas sa tête.

Pour l'injection dans la chambre antérieure (inoculation intracamérulaire), on évitera de traverser la cornée car, même

(1) Ce dispositif est fabriqué par Gauthier, 26, rue Daubenton, Paris (V°).



avec l'aiguille du modèle le plus fin, une partie de l'humeur aqueuse s'éliminerait par la petite plaie cornéenne au moment où l'on retirerait l'aiguille. Pour éviter cette déperdition d'humeur aqueuse (et d'émulsion inoculée), il est indispensable de traverser la conjonctive et la sclérotique à 1 ou 2 millimètres en arrière du limbe, par une ponction « en chicane ». Avec des doses faibles comme celles que nous injectons communément (1/10 de centimètre cube), il est facile d'éviter tout reflux important hors de la chambre antérieure, à la condition aussi que l'animal ne bouge pas et que l'aiguille soit retirée brusquement.

Chez un certain nombre de lapins nous avons pratiqué l'*injection rétrociliaire* utilisée par von Szily dans ses expériences sur l'uvéite herpétique. L'aiguille pénètre à travers la cornée à 3 ou 4 millimètres du limbe, sa pointe étant dirigée vers l'angle iridocornéen. Elle traverse cet angle et la racine de l'iris pour atteindre l'espace compris entre le corps ciliaire et la sclérotique.

Enfin, pour l'*injection intravitréenne*, l'aiguille est dirigée perpendiculairement au globe légèrement attiré en avant et enfoncée de quelques millimètres à travers la sclérotique, la choroïde et la rétine.

### Constatations cliniques.

Toutes nos expériences ont porté sur un assez grand nombre d'animaux. La résistance de ceux-ci à l'invasion bacillaire est extrêmement variable, et si l'on n'expérimente que sur quelques sujets, l'impression que l'on en retire peut être très différente de celle qui résulte de l'observation de nombreux animaux, malgré la quantité constante de bacilles inoculés.

Pour ne pas surcharger ce mémoire, nous nous contenterons de signaler à titre d'exemple les faits qui nous ont paru correspondre à une évolution moyenne.

Lorsqu'au lieu de l'émulsion bacillaire extrêmement faible (1/100.000 de milligramme de bacilles dans 1 cent. cube d'eau), on utilise des émulsions plus denses, l'évolution des lésions expérimentales peut être notablement modifiée. Nous aurons à

en parler, car nous avons également fait des expériences dans ce sens. Mais disons de suite que lorsqu'on veut apprécier l'évolution du processus expérimental dans toute sa pureté, c'est toujours aux émulsions très faibles qu'il faut avoir recours.

### Tuberculose bovine virulente.

La souche utilisée provient de la collection de l'Institut Pasteur, et est désignée du nom de tuberculose bovine Vallée.

Voici les caractères cliniques des lésions suivant le point d'inoculation.

#### INOCULATION INTRACORNÉENNE.

L'injection intracornéenne de doses minimales d'émulsion de tuberculose virulente n'est suivie les premiers jours d'aucune modification macroscopique. Parfois cependant on note au point d'injection une très légère opalescence. En deux à trois jours au plus les lésions traumatiques ont disparu, et ce n'est qu'au huitième jour qu'au point d'inoculation apparaît un léger trouble grisâtre entourant un point central plus blanc et plus opaque. Au onzième jour, en même temps que l'opacité cornéenne augmente, la pupille se contracte et l'iris s'épaissit. Un développement de néovaisseaux dans la cornée apparaît vers le quinzième jour, se dirigeant de la périphérie cornéenne vers la lésion centrale.

Peu à peu, l'infiltration et l'opacité cornéenne avec vascularisation s'étendent en surface si bien qu'après deux mois à deux mois et demi la presque totalité de la cornée se trouve transformée en une masse opaque et charnue ne permettant plus l'observation des lésions iriennes. Dans la suite, la cornée se perforé et le globe oculaire subit une fonte caséuse progressive. Les tissus orbitaires peuvent s'infiltrer à leur tour, ainsi que les téguments du côté inoculé. Les animaux augmentent de poids, et ce n'est qu'après de nombreux mois que l'on voit apparaître avec une diminution de poids, une respiration plus rapide en rapport avec les lésions pulmonaires auxquelles ils succombent au bout de sept à douze mois, ou même plus.

Citons à titre d'exemple une de nos expériences.

EXPÉRIENCE 1 (1). — Lapin gris blanc de 2 kilogrammes reçoit le 12 octobre 1931 dans la cornée de l'œil droit  $1/40$  de centimètre cube d'une émulsion de bacille bovin Vallée. L'émulsion est si étendue qu'examinée au microscope après coloration de Ziehl, les bacilles acido-résistants ne se retrouvent pas dans tous les champs du microscope.

Du 13 au 20 octobre, la cornée a repris son aspect normal et sa transparence. Le 20 octobre, au niveau du point d'inoculation, on constate un léger trouble de la cornée en flocons de neige entouré d'une zone très légèrement grise. Le 22 octobre, il se développe une injection périkeratique circonscrite au secteur correspondant à la lésion qui devient plus opaque et plus étendue. En même temps, l'iris jusque-là normal, s'épaissit et s'hyperémie et la pupille se contracte.

La kératite augmente progressivement pendant un mois. On ne constate pas dans le secteur irien visible de lésions nodulaires. Vers le 10 décembre, la lésion cornéenne s'est étalée, occupe près des deux tiers supérieurs ne permettant plus l'examen de l'iris, si ce n'est dans la moitié inférieure. A ce moment le centre de la lésion s'ulcère et dans les frottis faits avec l'exsudat on met en évidence de nombreux bacilles acido-résistants. Le 14 janvier, la cornée dans sa moitié supérieure est transformée en une masse jaune rosée saillante, d'aspect charnu avec vascularisation et injection périkeratique très accusée. Pendant cette période, le poids du lapin a passé de 2 kilogrammes à 3 kilogr. 600.

On remarque à partir du 14 janvier l'apparition de lésions folliculaires de la conjonctive bulbaire siégeant au voisinage du limbe et dans le méridien vertical.

Les lésions cornéennes s'accroissent de plus en plus et la surface ulcérée et caséuse s'élargit.

Le 12 mai, aux lésions cornéennes et épisclérales s'ajoute une ulcération à fond caséux de la conjonctive tarsienne supérieure entraînant un œdème et une tuméfaction des paupières. Le 12 juillet, toute la région oculaire forme une masse caséuse suppurante ne permettant plus l'observation des tissus oculaires. Le poids du lapin commence à baisser, 2,900 grammes.

Le 9 octobre cachexie, amaigrissement. Tuméfaction de toute la partie droite de la tête.

Mort le 11 octobre 1932. Poids : 2,030 grammes. A l'autopsie, en dehors des lésions locales, on constate une tuberculose pleuro-pulmonaire avec nodules caséux contenant des bacilles acido-résistants.

Pas d'autres lésions viscérales macroscopiques.

#### INOCULATION DANS LA CHAMBRE ANTÉRIEURE.

Lorsque l'injection dans la chambre antérieure est faite avec une petite quantité de liquide et sans traumatiser l'iris, l'œil ne présente pendant les jours qui suivent aucune réaction macroscopique ou biomicroscopique. Ce n'est que vers le hui-

(1) Les expériences ont été numérotées suivant leur ordre de publication dans ce mémoire.

tième jour que se manifestent les premiers symptômes : c'est une légère exsudation au niveau du contour pupillaire avec contraction de la pupille.

Vers le quinzième jour, les symptômes d'iritis deviennent plus manifestes en même temps qu'apparaît une injection périkeratique légère : le tissu irien s'épaissit et en l'examinant à la loupe ou au biomicroscope, on reconnaît la présence de petits nodules grisâtres plus ou moins nombreux.

Les jours qui suivent l'injection périkeratique augmente, les lésions d'épaississement de l'iris deviennent plus manifestes donnant à la face antérieure de cette membrane un aspect godronné. A partir de la sixième semaine, la cornée se vascularise et se distend et l'observation des détails n'est plus possible.

Peu à peu, le segment antérieur prend un aspect charnu, s'ulcère.

Le poids de l'animal qui avait augmenté pendant les cinq ou six premiers mois commence à baisser, et la mort par cachexie survient du septième au neuvième mois.

Voici un exemple de cette évolution :

EXPÉRIENCE 2. — Lapin gris jaune de 2 kilogr. 300, reçoit le 12 octobre 1931, dans la chambre antérieure de l'œil droit 1/20 de centimètre cube d'une émulsion de bacilles bovins Vallée.

Du 13 au 20 octobre, on ne constate aucune réaction. La cornée est claire. Pas d'injection périkeratique, pas d'exsudat, iris normal.

Le 20 octobre, apparaît un petit exsudat floconneux sur le contour pupillaire, principalement à 9 heures.

Le 26 octobre 1931, on constate une légère injection périkeratique à la partie supérieure du globe. La cornée reste claire, mais l'iris est hyperémié. godronné et on voit se développer sur sa face antérieure, dans les jours suivants, un semis de petits nodules grisâtres caractéristiques. La pupille est contractée. Du 26 octobre au 23 novembre, on assiste à l'augmentation de volume et à la confluence de ces nodules qui entraînent rapidement la distension du globe. La cornée distendue et vascularisée superficiellement ne permet plus de distinguer la pupille.

Le 10 décembre 1931, l'œil est exophtalme, gris rosé. On ne voit presque plus les limites de la cornée qui est infiltrée de gommages blanchâtres. Le 14 janvier 1932, l'œil est transformé en une masse charnue soulevée par des nodules caséux.

Le 16 février, la fonte caséuse du globe augmente de plus en plus. A ce moment, le poids du lapin commence à baisser, la cachexie s'accuse. Le 7 mai 1932, le lapin ne pèse plus que 1.800 grammes et la mort survient : l'autopsie montre de grosses lésions pulmonaires avec nombreux bacilles acido-résistants dans les frottis. Les autres viscères sont normaux.



## INOCULATION RÉTROCILIAIRE.

L'injection faite dans une région très vasculaire donne parfois lieu à une hémorragie de la chambre antérieure dont la résorption demande quelques jours, puis tout reparait normal et ce n'est qu'au quinzième jour que se manifestent des symptômes d'iritis avec injection périkeratique, épaississement du tissu irien, contraction de la pupille et éruption nodulaire. A partir de ce moment l'évolution des lésions ne diffère guère de celle que nous avons indiquée après l'inoculation dans la chambre antérieure.

Voici un exemple :

EXPÉRIENCE 3. — Lapin jaune roux de 2 kilogr. 150, reçoit le 12 octobre 1931 une injection rétroculaire, transcornéenne de 1/20 de centicube T. B. V. dans l'œil droit.

Le 14 octobre, on constate une hémorragie remplissant la chambre antérieure qui ne permet pas d'apercevoir la pupille.

Le 23 octobre, le caillot commence à se résorber et l'iris apparaît au niveau de sa périphérie.

Le 26 octobre, le caillot est presque complètement résorbé sauf au niveau de la pupille. On voit l'iris. Légère injection périkeratique. Cornée claire, sauf petite zone opaque au point d'inoculation.

Le 8 novembre 1931, l'injection périkeratique est très marquée, la cornée trouble dans sa totalité laisse cependant percevoir l'iris qui est épaissi, godronné et à la surface duquel se trouvent de nombreux nodules. La pupille est contractée.

Du 9 novembre au 25 novembre, les nodules augmentent de volume, la cornée se distend et se vascularise de plus en plus.

Le 22 décembre, la cornée est transformée en une masse charnue qui ne tarde pas à s'ulcérer et à suppurer.

Du 11 février 1932 au 12 mai, on assiste à la caséification complète du globe et à sa fonte purulente, tandis que le poids du lapin tombe progressivement de 2 kilogr. 150 à 1.750 grammes.

Le 1<sup>er</sup> mai 1932, le lapin meurt de tuberculose pulmonaire très accusée avec caséification. Les frottis de poumon montrent des bacilles acido-résistants en grande abondance. Pas d'autres lésions viscérales.

## Inoculations oculaires de BCG.

La souche de BCG que nous avons utilisée est celle qui sert pour la vaccination préventive.

Nous avons procédé pour l'inoculation en suivant la même technique, mais en faisant varier les doses utilisées.

## INOCULATIONS DANS LA CORNÉE.

48 lapins ont été inoculés, soit avec l'émulsion telle qu'elle est livrée pour la vaccination des nouveau-nés, soit avec une dilution à différents titres de cette émulsion. Ici, contrairement à ce que nous avons observé pour la tuberculose virulente, la question de dose intervient d'une manière notable dans l'intensité des lésions produites, mais disons de suite que dans aucune expérience, nous n'avons vu ces réactions se développer en dehors des tissus au niveau desquels l'injection avait été faite.

Si l'on injecte dans la cornée 1/20 de centimètre cube de l'émulsion normale, on produit immédiatement une opacité blanchâtre, qui a disparu dès le lendemain, ou n'a laissé qu'un très léger voile. Du deuxième au cinquième jour, l'aspect de la cornée ne se modifie pas. A partir du cinquième jour, la partie injectée s'opacifie en même temps que se produit une légère injection périkeratique, et parfois un peu de sécrétion conjonctivale. Au dixième jour, le centre de la cornée présente une zone blanche saturée, de 2 ou 3 millimètres de diamètre, entourée d'une zone où la cornée est légèrement grisâtre. Sur le bord supérieur de la cornée apparaissent une série de vaisseaux superficiels qui se dirigent vers la zone blanche. Vers le vingtième jour, la lésion qui ne s'était que très faiblement étendue se circonscrit, le trouble diffus qui l'entoure diminue, la vascularisation qui s'étend du limbe à la zone opacifiée a un peu augmenté, mais l'injection périkeratique a disparu.

On assiste ensuite à la régression lente et progressive de l'infiltration cornéenne, l'iris ne montre aucun signe pathologique et il ne subsiste au bout de deux mois qu'une très légère opacité cicatricielle du centre de la cornée.

Si l'on ponctionne le petit abcès cornéen, on constate la présence de polynucléaires englobant un très grand nombre de bacilles acido-résistants.

Si l'on injecte dans la cornée 1/20 de centicube d'une émulsion étendue de quatre parties d'eau physiologique, il se produit au dixième jour une petite opacification intracornéenne,

qui diminue rapidement au point qu'au dix-septième jour, il ne reste qu'un voile extrêmement léger au point d'inoculation. A ce niveau, peut se développer dans la suite une petite ulcération superficielle qui se vascularise à l'aide de vaisseaux se développant dans la partie superficielle de la cornée et venant du limbe. Cette ulcération se cicatrise spontanément, ne laissant finalement qu'une opacité minime.

Dans aucun cas, nous n'avons vu d'extension de la lésion à l'iris et aux tissus intra-oculaires; mais il peut se produire un exsudat purulent dans la chambre antérieure (hypopion), même en l'absence de toute contamination superficielle ou profonde.

Dans un mémoire publié dans ces *Annales*, Kirchner (4) relatait le résultat d'expériences de transmission de l'infection cornéenne de lapin à lapin. Avec l'exsudat intracornéen, il inoculait un lapin neuf dans la cornée et constatait le développement d'un abcès.

Contrairement à cet observateur, nous n'avons vu d'abcès de la cornée ne se produire qu'exceptionnellement, et alors que de très fortes doses avaient été injectées. D'autre part, en ponctionnant le petit abcès intracornéen, riche en bacilles acido-résistants et en l'inoculant à la cornée de lapins neufs, nous n'avons pas vu se produire d'altération manifeste, et nous n'avons par conséquent pas pu continuer l'inoculation en série comme prétendait avoir pu le faire Kirchner (voir Expérience n° 7).

EXPÉRIENCE 4. — Un lapin gris taché blanc, de 2 kilogr. 100, reçoit, le 26 octobre 1933, une injection intracornéenne de 1/20 d'émulsion au 1/100.000 de BCG. Le lendemain et les jours suivants, on ne constate tant à l'examen direct qu'avec le biomicroscope aucune lésion locale. Ce lapin a été maintenu en observation pendant près de huit mois. Sacrifié le 11 juin 1934, l'autopsie ne révèle aucune lésion viscérale ou autre.

EXPÉRIENCE 5. — Un second lapin gris de 2 kilogr. 210 a reçu le même jour 1/10 de la même émulsion au 1/100.000. Chez cet animal encore, nous n'avons observé aucune réaction immédiate ou tardive.

EXPÉRIENCE 6. — Le 5 octobre 1931, un lapin blanc de 2 kilogr. 330, reçoit dans la cornée 1/10 de centimètre cube d'une émulsion vaccinale, non diluée, de BCG.

(4) KIRCHNER. Recherches expérimentales sur le BCG, ses propriétés pathogènes et immunisantes. Ces *Annales*, 43, 1929, p. 989.

Le 6 octobre 1931, au point d'injection, on constate une très légère zone grisâtre.

Du cinquième au dixième jour, la cornée présente une petite zone infiltrée grisâtre sans réaction irienne.

Au trentième jour, la cornée a retrouvé toute sa transparence, on ne constate au niveau de la zone d'infiltration qu'une légère dépression en facette de la surface épithéliale sans modification de transparence. Iris normal.

EXPÉRIENCE 7. — Le 28 février 1933, un lapin noir et blanc de 2 kilogr. 450, reçoit dans la cornée 1/20 de centimètre cube de l'émulsion vaccinale non diluée de BCG.

Le lendemain, il existe un très léger trouble central de la cornée. Le 3 mars (quatrième jour), une légère injection périkeratique se produit, l'iris est normal.

Du 4 au 10 mars, infiltration de la cornée de 1 mm. 5 en largeur sur 2 millimètres en hauteur en forme de tache blanche saturée centrale entourée d'une zone grisâtre de 4 millimètres de diamètre. A la partie supérieure du limbe et se dirigeant vers cette opacité se voient des néo-vaisseaux cornéens superficiels (pannus).

Le 14 mars, les néo-vaisseaux atteignent la zone infiltrée; on prélève par grattage un peu de tissu de la zone infiltrée; l'examen microscopique montre des amas de bacilles acido-résistants dont beaucoup sont englobés par des polynucléaires.

Ce même jour, on prélève par grattage avec un couteau à cataracte le pus bacillifère et on l'inocule à un lapin neuf (voir obs. ci-dessous n° 8).

Le 23 mars, la zone d'infiltration blanchâtre a diminué.

Le 6 avril, l'injection périkeratique a macroscopiquement disparu ainsi que le pannus cornéen.

Dans les mois qui suivent, les lésions vont en régressant progressivement.

Le 20 octobre 1933, il ne reste qu'une très légère opacité centrale avec vascularisation superficielle visible au microscope cornéen.

EXPÉRIENCE 8. — Lapin gris, 1 kilogr. 600 est inoculé le 14 mars 1933, dans la cornée des deux yeux avec le produit de raclage de l'abcès cornéen du lapin précédent. Le couteau à cataracte chargé de ce produit fait une série de piqures et d'incisions.

Du 16 mars au 20 mars, aucune réaction macroscopique.

Le 29 mars, la cornée ne présente macroscopiquement aucun trouble et à l'examen, à la lampe à fente, on ne constate que de petits troubles correspondant aux lésions traumatiques.

EXPÉRIENCE 9. — Un lapin blanc taché noir de 2 kilogr. 400, reçoit dans la cornée, le 13 juin 1933, 1/20 de centimètre cube d'émulsion vaccinale de BCG.

Le lendemain, très léger trouble au niveau du centre de la cornée.

Le 20 juin, l'infiltration du centre de la cornée a augmenté formant un véritable petit abcès. En même temps, on observe un léger hypopion, une injection périkeratique forte et une vascularisation marginale de la cornée à sa partie supérieure.

Le 23 juin, l'aspect est sensiblement le même et l'hypopion a un peu augmenté.

Le 29 juin, disparition de l'hypopion. Injection périkeratique limitée au



secteur supérieur et correspondant avec un pannus qui s'étend jusqu'à la zone d'infiltration.

Le 4 juillet, la zone de l'abcès ne forme plus qu'une petite opacité blanc-grisâtre, aucune lésion irienne.

A partir du cinquième mois, on ne note plus qu'une petite opalescence centrale sans vascularisation et sans réaction qui se maintient telle jusqu'en octobre 1934, époque à laquelle le lapin est tué. Poids : 2 kilogr. 650. A l'autopsie aucune lésion viscérale.

#### INOCULATIONS DANS LA CHAMBRE ANTÉRIEURE.

L'inoculation d'émulsion très étendue au 1/100.000 de BCG dans la chambre antérieure ne provoque le plus souvent aucune réaction; même à l'examen de l'iris avec la lampe à fente, on ne constate, entre le dixième et le vingtième jour, aucune réaction manifeste.

Avec des émulsions telles que celles qui sont employées pour la prévention de la tuberculose les choses se passent différemment.

Voici quelques exemples :

EXPÉRIENCE 10. — Un lapin de 2 kilogr. 060 reçoit, le 26 octobre 1933, 1/10 de centimètre cube de l'émulsion à 1/100.000 dans la chambre antérieure de l'œil droit.

Le lendemain, on ne constate aucune modification de l'œil. L'animal n'a présenté ultérieurement, à aucun moment, de trouble irien ou autre.

Mort de pasteurellose le 19 mars 1934, on n'a constaté aucune lésion viscérale bacillaire.

EXPÉRIENCE 11. — Un lapin gris beige de 2 kilogr. 570 reçoit, le 29 septembre 1932, 1/10 de centimètre cube de l'émulsion vaccinale de BCG.

Les jours suivants, jusqu'au 6 octobre, la cornée claire permet de constater l'existence d'un petit exsudat fibrineux devant l'iris et au pourtour de la pupille.

Le 17 octobre, très légère injection périkeratique, pupille contractée. Iris légèrement épaissi.

Le 7 novembre, pupille légèrement irrégulière, plus d'exsudat. Légère dépigmentation irienne. Il ne s'est produit dans la suite aucune modification locale ou générale. Tué le 23 octobre 1933, l'autopsie ne révèle aucune lésion bacillaire.

EXPÉRIENCE 12. — Un lapin de 1 kilogr. 700 (beige et blanc) reçoit, le 29 septembre 1932, 1/10 de centimètre cube d'émulsion vaccinale de BCG dans la chambre antérieure de l'œil droit.

Les jours qui suivent, on constate une légère injection périkeratique et un exsudat blanchâtre fibrineux occupant la pupille.

Le 10 octobre, l'injection périkeratique a un peu diminué. L'iris est légè-

rement hyperémié, la pupille est rétrécie, mais l'exsudat n'occupe plus que le bord pupillaire.

Le 24 octobre, l'iris est épaissi, mais ne présente pas de lésions nodulaires.

Le 24 novembre, on constate la présence de deux petits nodules marginaux de l'iris. La cornée est restée claire, l'injection périkeratique nulle. Le 28 décembre, nous notons que les nodules étaient en régression, et en janvier 1933 que l'iris avait repris son aspect normal. Aucun trouble nouveau ne s'est produit pendant toute la durée de l'observation qui s'est étendue jusqu'en septembre 1933.

A côté de ces réactions bénignes, nous avons noté parfois, sans que nous ayons pu en préciser la cause, des réactions fortes, en particulier chez des lapins blancs.

EXPÉRIENCE 13. — Un lapin blanc de 1 kilogr. 900 reçoit dans les deux yeux 1/10 de centimètre cube d'émulsion de BCG le 25 avril 1932.

Le 26 avril 1932, on constate une injection périkeratique, un léger trouble cornéen, un exsudat grisâtre abondant, floconneux devant l'iris. Cet aspect augmente un peu jusqu'au 9 mai 1932. A droite, la cornée est troublée et vascularisée jusqu'à la région centrale. On peut reconnaître néanmoins la présence d'un exsudat blanchâtre dans la chambre antérieure. A gauche, la cornée est un peu moins troublée, mais il existe également un exsudat blanchâtre occupant une partie de la chambre antérieure.

A partir du 19 mai, la cornée de l'œil droit s'ectasie et une vascularisation annulaire superficielle se développe sur la presque totalité de la membrane.

A gauche, la cornée ne subit pas de modification manifeste.

Pendant la période qui s'écoule de juin à octobre, l'œil droit se maintient dans les mêmes conditions, alors que la cornée de l'œil gauche s'éclaircit et que la résorption partielle des exsudats permet de voir un peu l'iris.

Le 13 octobre 1932, on fait une ponction de la chambre antérieure de l'œil droit, on en retire un pus épais blanc grisâtre. Ce pus estensemencé et inoculé à des lapins et à des cobayes. L'examen direct, après coloration de Ziehl, montre la présence de rares bacilles acido-résistants. L'ensemencement sur milieu de Lœwenstein, ainsi que dans les milieux ordinaires, ne donne naissance à aucune colonie.

Nous donnerons plus loin le résultat des inoculations aux lapins et aux cobayes.

Ce lapin a été suivi jusqu'en 1933. L'œil droit, à partir de novembre, était devenu hypotone et la vision était abolie. L'œil gauche avait récupéré une certaine vision par suite de l'éclaircissement de la moitié antérieure de la cornée et de la disparition de l'exsudat.

L'animal, tué le 18 juin 1933, ne présentait aucune lésion viscérale d'origine bacillaire.

L'examen des globes oculaires a été fait par le Dr Bablet qui nous a donné le compte rendu suivant :

*Œil droit* : larges placards épithélioïdes adhérents à la cornée avec lymphocytes et rares cellules géantes. Granulations acido-résistantes intracellulaires, absence de bacilles. Cornée très infiltrée de leucocytes et sclérosée.

*Œil gauche* : Petits nodules épithélioïdes à centre nécrotique dans l'épaisseur de la cornée. Exsudat leucocytaire et quelques macrophages disséminés dans la chambre antérieure. Pas de bacilles acido-résistants.

Nous avons d'ailleurs observé des réactions de même nature sur des lapins auxquels nous avons voulu répéter l'inoculation intracamérulaire avec des doses très faibles, dans l'espoir d'obtenir une prémunition plus complète.

Voici maintenant l'expérience qui a été faite sur un lapin et des cobayes avec le pus prélevé dans l'œil du précédent lapin de l'expérience 13.

EXPÉRIENCE 14. — Le pus épais retiré par ponction de la chambre antérieure est dilué dans une quantité égale d'eau physiologique et 1/10 de centimètre cube du mélange est injecté dans la chambre antérieure d'un lapin blanc de 2 kilogr. 050, le 13 octobre 1932. L'animal a été observé jusqu'en octobre 1933. Il n'a présenté, à aucun moment, de modification locale ou de réaction générale. Le liquide injecté s'est résorbé dans les quarante-huit heures.

Deux cobayes (420 et 400 grammes) ont reçu, sous la peau de la paroi abdominale, 1/4 de centimètre cube de la même émulsion et n'ont présenté ni ulcération ni adénite. L'autopsie, faite le 19 avril 1933, n'a décelé aucune lésion locale ou générale.

Cette réaction particulière du lapin de l'expérience n° 13 n'a pas été observée sur les 36 autres lapins qui ont été inoculés dans la chambre antérieure avec l'émulsion de BCG. Par contre, chez quelques-uns des lapins blancs réinoculés quelques mois après la première injection, nous avons observé des réactions fortes se rapprochant de celle qui a été décrite.

EXPÉRIENCE 15. — Un lapin blanc de 1 kilogr. 750 reçoit le 19 juin 1933 1/20 de centimètre cube d'une émulsion vaccinale de BCG diluée au 1/10 (9 parties d'eau). Le lendemain et les jours suivants, il présente de petits exsudats fibrineux devant l'iris, puis l'exsudat est résorbé le 4 juillet.

Le 12 juillet, l'iris s'épaissit, la pupille est légèrement contractée avec une légère injection périkeratique qui disparaît à partir de la fin de juillet.

Le 14 novembre 1933, l'œil présente un aspect tout à fait normal. Aucune modification cornéenne ou irienne. On fait alors une deuxième injection dans la chambre antérieure de 1/10 de centimètre cube d'émulsion de BCG étendue de quatre parties d'eau. Le lendemain, injection périkeratique forte, trouble et distension de la cornée. Gros exsudat dans la chambre antérieure.

L'exsudat jaunâtre persiste jusqu'en février, époque où il se localise dans le champ pupillaire, mais l'opacité et la vascularisation de la cornée persistent sans changement jusqu'en septembre 1934, sans autre manifestation et sans diminution de poids.

Le 4 septembre 1934, le lapin pèse 3 kilogr. 400. L'autopsie ne montre aucune lésion pulmonaire ou viscérale.

Sur 9 lapins dont 8 blancs et un gris, la deuxième injection dans la chambre antérieure, pratiquée cinq mois après la pre-

mière injection a provoqué, chez 7 lapins blancs sur 8, une réaction forte, alors que chez un lapin blanc et sur un lapin gris, la même injection pratiquée dans les mêmes conditions n'a donné lieu qu'à une réaction minime, limitée à quelques jours, sans laisser de modifications notables de la cornée ou de l'iris.

### Tuberculose atténuée (T. B. 18 de Uhlenhuth).

La souche T. B. 18 Uhlenhuth est une tuberculose d'origine bovine atténuée spontanément.

#### INOCULATIONS INTRACORNÉENNES.

L'injection intracornéenne est effectuée avec 1/20 de centimètre cube d'une émulsion dont chaque centimètre cube renferme 5 milligrammes de bacilles. Dans les quarante-huit premières heures, on note une légère injection périkeratique, un léger trouble de la cornée, une contraction de la pupille.

Puis la cornée s'éclaircit et ne se trouble à nouveau qu'à partir du douzième jour.

La cinquième semaine, l'opacité cornéenne forme un petit nodule très faiblement saillant, qui, parfois, s'exulcère et qui donne lieu à une néoformation de vaisseaux le long du limbe.

Vers le troisième mois, la lésion cornéenne est en régression.

Vers le cinquième mois, il ne reste plus qu'une opacité légère et superficielle de la cornée.

Les lapins ont été conservés pendant plus d'un an et n'ont présenté ni diminution de poids, ni trouble de la santé générale.

Voici l'observation d'un des animaux inoculés :

EXPÉRIENCE 16. — Un lapin de 1 kilogr. 700 est inoculé le 26 novembre 1931 par injection dans la cornée de 1/20 de centimètre cube d'une émulsion dont chaque centimètre cube renferme 5 milligrammes de bacilles.

Le 27 novembre, injection périkeratique moyenne, léger trouble de la cornée. Contraction de la pupille.

A partir du 29 novembre, l'injection périkeratique a diminué ainsi que le trouble cornéen.

A partir du 15 décembre, se produit à la partie centrale une infiltration de la cornée sous forme de nodule blanchâtre.

Le 22 décembre, le nodule cornéen est assez volumineux et présente une



vascularisation provenant du limbe et une ulcération superficielle. Pas de réaction irienne.

Dans les mois qui suivent, la lésion a tendance à régresser. Elle est moins saillante et les parties saines de la cornée ne sont pas envahies.

Le 6 juin 1932, nous notons : injection périkeratique minima, opacité cornéenne légère avec vascularisation.

Le 18 octobre 1932, les symptômes irritatifs ont disparu, plus d'injection périkeratique, plus de néovascularisation de la cornée. A la place du nodule, on ne constate qu'une très légère opacité nubéculaire.

L'animal, dont le poids s'était élevé à 2 kilogr 850, a été tué le 7 mai 1934, et ne présentait aucune lésion viscérale.

#### INOCULATIONS DANS LA CHAMBRE ANTÉRIEURE.

L'injection intracaméculaire s'est montrée toujours plus sévère que l'injection cornéenne.

Elle est généralement suivie, après une quinzaine de jours, de l'apparition d'une iritis nodulaire, qui entraîne habituellement la destruction de la fonction visuelle.

Chez un des animaux morts de pasteurellose au bout de cinq mois, nous avons pu constater encore la présence de bacilles acido-résistants nombreux dans les nodules caséux iriens.

Voici une de nos expériences :

EXPÉRIENCE 17. — Le lapin (4 kilogr. 170) reçoit, le 3 octobre 1932, 1/15 de centimètre cube de l'émulsion à 5 milligrammes par centimètre cube.

Le lendemain, petit exsudat sur le bord pupillaire, léger trouble de l'humeur aqueuse.

Le 6 octobre, injection périkeratique moyenne, cornée claire, persistance du petit exsudat fibrineux au devant du bord pupillaire.

Le 10 octobre, injection périkeratique moyenne, cornée trouble, exsudat très accusé dans la pupille.

Le 24 octobre, cornée plus opalescente. Une vascularisation superficielle périphérique se développe, rendant difficile l'examen de l'iris.

Le 15 novembre, grosses masses caséuses visibles dans la chambre antérieure, donnant à l'œil l'aspect d'une cerise bigarreau. Cet aspect ne subit aucun changement jusqu'à la mort provoquée le 24 août 1933.

L'examen des viscères ne montre aucune lésion, l'animal pesait à ce moment 5 kilogr. 100.

#### Tuberculose atténuée (R 1 de Saranac).

Nous pourrions répéter pour la tuberculose atténuée R 1 de Saranac (tuberculose humaine) ce que nous avons dit de la tuberculose T. B. 18 de Uhlenhuth.

Pour simplifier, nous nous contenterons de relater les observations suivantes :

### INJECTION INTRACORNÉENNE.

EXPÉRIENCE 18. — Un lapin de 2 kilogr. 600 reçoit, le 3 octobre 1932, 1/20 de centimètre cube de l'émulsion, dont chaque centimètre cube contient 5 milligrammes de bacilles dans la cornée de l'œil droit.

Le 4 octobre, injection péricératique, cornée claire.

Le 10 octobre 1932, injection péricératique légère, léger trouble cornéen dans la zone injectée.

Le 24 octobre, infiltration nodulaire jaunâtre dans le secteur supérieur de la cornée.

Le 2 novembre, le nodule est un peu plus saillant, vascularisé.

Le 10 novembre, le nodule présente une petite ulcération et une vascularisation venant du bord supérieur du limbe.

Le 29 décembre 1932, nodule cornéen en régression.

A partir du 20 février 1933, on ne note plus qu'une petite opacité légère de la cornée sans modification de l'iris.

L'animal est sacrifié le 24 août 1933. Poids 3 kilogr. 860. Aucune lésion locale ou viscérale.

### INJECTION DANS LA CHAMBRE ANTÉRIEURE.

L'injection dans la chambre antérieure est parfois plus sévère que l'inoculation intracornéenne. Chez l'un des 5 lapins inoculés de la même manière, nous avons vu par suite du développement de nodules caséux dans la chambre antérieure se produire une distension de la cornée et une perforation, mais ici encore, les lésions restent limitées à l'organe inoculé.

EXPÉRIENCE 19. — Un lapin de 2 kilogr. 670 reçoit le 3 octobre 1933 dans la chambre antérieure 1/40 de centimètre cube de l'émulsion, dont 1 cent. cube renferme 5 milligrammes de bacilles.

Le 4 octobre, injection péricératique moyenne, léger trouble de l'humeur aqueuse.

Le 6 octobre, cornée claire, léger exsudat à la surface de l'iris.

Le 24 octobre, injection péricératique forte, cornée distendue et légèrement trouble, léger épaississement de l'iris.

Le 10 novembre, aspect godronné de l'iris, hyperémie, apparition de nodules iriens et vascularisation manifeste de l'iris.

Cet état se maintient jusqu'au 29 décembre, époque où les symptômes de régression se manifestent.

Le 10 janvier, la cornée légèrement distendue a repris sa transparence, injection péricératique nulle, iris quasi-normal avec quelques zones de dépigmentation.

L'animal est sacrifié le 24 août 1933. Poids 3 kilogr. 370. Aucune extension des lésions oculaires. Aucune localisation viscérale.

### Tuberculoses dissociées.

On sait que Petroff (1) a reconnu, dans les cultures des différentes espèces de bacilles tuberculeux, deux variétés principales d'aspect des colonies : l'une rugueuse, sèche (désignée du nom de Rough, en abréviation R), l'autre lisse, humide (désignée sous le nom de Smooth, en abréviation S). Dans les cultures du bacille tuberculeux, les deux variétés de colonies se trouvent mélangées, mais on parvient à les dissocier et l'on obtient ainsi, pour les bacilles bovins, humains, pour le BCG et la tuberculose aviaire, des cultures R (ne contenant plus que la variété sèche) ou des cultures S (ne contenant plus que la variété humide).

Suivant la même technique précédemment indiquée, nous avons inoculé au lapin et, dans quelques expériences, au cobaye, les variétés R et S qui nous ont été confiées par M. Saenz.

#### TUBERCULOSE BOVINE, INOCULATIONS INTRACORNÉENNES DE R.

Avec 1/10 de centimètre cube d'une émulsion à 1/1.000 de milligramme de R bovine, l'inoculation intracornéenne donne un résultat absolument comparable à celui de la culture non dissociée.

Vers le huitième ou dixième jour, on voit une infiltration blanche se produire, donnant lieu à une ulcération qui s'étend peu à peu et entraîne la fonte purulente de l'œil après trois à cinq mois.

Voici une de nos expériences :

EXPÉRIENCE 20. — Un lapin de 3 kilogr. 500 reçoit, le 27 septembre 1933, une injection intracornéenne d'une émulsion de 1/1.000 de milligramme.

Le lendemain et les jours suivants, on ne constate qu'un très léger voile au niveau de l'injection cornéenne.

Le 3 octobre se produit une légère injection périkératique, en même temps qu'une infiltration grisâtre de la cornée au niveau de la région injectée.

Le 10 octobre, la zone d'infiltration cornéenne s'est agrandie, mais on ne constate encore aucune modification du côté de l'iris.

Le 17 octobre, l'infiltration cornéenne, encore circonscrite, donne lieu à

(1) S. A. PETROFF et W. STEENKEN. *Journal of Exp. Med.*, 51, 1930, p. 831

une néoformation de vaisseaux superficiels. L'iris est hyperémié et épaissi. En même temps il existe un peu de sécrétion conjonctivale.

Le 8 novembre, la cornée présente, dans sa partie centrale, une ulcération à fond caséux et un pannus vasculaire occupant le tiers supérieur de la périphérie cornéenne.

Le 22 décembre, l'ulcération caséuse s'est étendue à toute la cornée et à tout le segment antérieur.

A partir du mois d'avril le poids de l'animal (qui jusque-là avait augmenté) commence à diminuer, 3 kilogr. 400 en avril, 3 kilogrammes en mai et la mort survient le 21 juin 1934 (poids : 1 kilogr. 870).

Les deux poumons sont infiltrés de masses caséuses renfermant de nombreux bacilles acido-résistants; il n'existe pas de lésions macroscopiques du foie, de la rate ou des reins.

### INOCULATIONS INTRACAMÉRULAIRES DE R.

Ici, encore, les lésions produites par injection dans la chambre antérieure ont évolué d'une manière identique à celle de l'injection d'une culture non dissociée.

EXPÉRIENCE 21. — Le 27 septembre 1933, un lapin de 3 kilogr. 140 reçoit dans la chambre antérieure 1/10 de centimètre cube d'émulsion à 1/1.000 de milligramme.

Le 6 octobre, injection périkératique moyenne, petit exsudat le long du contour pupillaire.

Le 11 octobre, injection périkératique forte, épaississement de l'iris, pupille contractée, irrégulière.

Le 16 octobre, trouble diffus de la cornée rendant impossible l'examen de l'iris.

Le 31 octobre, distension de la cornée, formation de masses caséuses dans la chambre antérieure.

Le 15 décembre, le développement des masses caséuses dans la chambre antérieure et la distension de la cornée donne l'aspect « bigarreau ».

Le 11 janvier, la partie centrale de la cornée s'ulcère. Peu à peu tout le segment antérieur de l'œil se transforme en une masse charnue suppurante.

Le 23 octobre, le poids, qui avait atteint 3.800 grammes, commence à baisser : 3.200 grammes.

L'animal est tué. A l'autopsie pas d'autres lésions viscérales que quelques foyers d'infiltration marginale des lobes pulmonaires avec semis de petites granulations. La recherche des bacilles acido-résistants est positive.

### INOCULATIONS INTRAVITRÉENNES DE R.

L'injection intravitréenne de l'émulsion de R bovine n'entraîne, pendant la première quinzaine, aucune réaction apparente.

Après quinze à vingt jours l'examen à l'ophtalmoscope montre un léger trouble du vitré avec reflet blanc grisâtre.



Peu après apparaissent des lésions iriennes, avec formations nodulaires dont l'augmentation de volume se poursuit pendant les mois suivants.

EXPÉRIENCE 22. — Un lapin de 2 kilogr. 400 reçoit, le 27 septembre 1933, 1/10 de centimètre cube de l'émulsion à 1/1.000 de R bovine intravitréenne par ponction dans la région équatoriale. Il ne présente dans la première quinzaine aucune modification apparente, sauf à l'examen ophtalmoscopique un léger reflet blanc vitréen correspondant au point d'injection.

Le 16 octobre, légère injection périkératique, pas de modification de l'iris, mais trouble du vitré avec reflet blanc grisâtre.

Le 20 octobre, myosis, hyperémie, épaississement de l'iris.

Le 25 octobre, apparition de nodules iriens typiques dans la région sphinctérienne en particulier.

Le 20 novembre, légère distension de la cornée, augmentation des nodules iriens.

Le 8 décembre, la cornée présente un trouble diffus et une distension marquée ne permettant plus l'observation facile de l'iris.

Le 9 mars 1934, des masses caséeuses apparaissent derrière la cornée trouble.

Cet état se maintient jusqu'au mois d'octobre.

Le 24 octobre, le lapin est tué. Poids : 3.540 grammes.

Surcharge adipeuse. Pas d'autres lésions viscérales que celles du poumon intéressant le lobe inférieur du poumon gauche et le bord antérieur du poumon droit. Dans les frottis, faits avec les lésions pulmonaires, les bacilles acido-résistants sont en grande abondance.

#### INOCULATIONS INTRACORNÉENNES DE S.

L'injection de S bovine, faite à la dose égale à celle de R, donne des résultats tout à fait différents de ceux que nous avons décrits pour la R. Les faibles réactions locales produites par l'injection évoluent vers la cicatrisation et n'ont aucune tendance à envahir l'organisme.

EXPÉRIENCE 23. — Un lapin de 2 kilogr. 600 reçoit, le 26 octobre 1933, dans la cornée, 1/20 de centimètre cube d'émulsion à 1/1.000 de milligramme. Il ne se produit aucune modification jusqu'au 22 décembre. A cette date on constate une petite opacité de la cornée avec vascularisation sans injection périkératique. Cette lésion cornéenne minime persiste sans tendance à l'extension jusqu'au mois de mars 1934.

A partir de cette époque, on ne constate plus ni vascularisation ni trouble marqué; il ne reste qu'une très légère opacité nubéculaire.

A aucun moment l'examen de l'iris au biomicroscope n'a montré de lésions iriennes.

Le lapin est tué le 29 octobre 1934. Poids : 3 950 grammes.

Pas de lésions viscérales ou pulmonaires.

### INOCULATIONS DANS LA CHAMBRE ANTÉRIEURE DE S.

EXPÉRIENCE 24. — Un lapin de 2 kilogr. 420 reçoit, le 26 octobre 1933, dans la chambre antérieure, 1/10 de centimètre cube d'une émulsion de 1/1.000 de milligramme.

Aucun symptôme pendant la première semaine.

Le 8 novembre, légère injection périkeratique sans trouble de la cornée, ni de l'iris.

Le 14 novembre, injection périkeratique un peu plus marquée, cornée claire. Iris hyperémié et légèrement épaissi.

Le 20 novembre, injection périkeratique forte, iris épaissi avec quelques petites hémorragies.

Vers le 15 décembre, les symptômes réactionnels diminuent.

Le 22 décembre, l'iris a repris son épaisseur normale et est légèrement dépigmenté.

A partir du 29 décembre on ne constate plus, en dehors de cette légère dépigmentation irienne, de symptôme oculaire manifeste.

L'animal est mort accidentellement le 7 mai 1934, l'examen des viscères a montré leur intégrité et l'absence de bacilles acido-résistants.

### INOCULATIONS INTRAVITRÉENNES DE S.

L'injection intravitréenne de S bovine, même à forte dose (6 milligrammes), n'a pas donné davantage de manifestations en dehors de l'appareil visuel.

### BCG

L'inoculation intracornéenne ou intracamérulaire de BCG à la dose de 1/10 de centimètre cube d'une émulsion à 1/100.000 de milligramme n'a provoqué aucune réaction, que l'injection fût faite avec la souche R. ou la souche S.

Il n'est par conséquent pas utile de relater les expériences qui ont été répétées sur 6 lapins.

### Tuberculose aviaire.

Les souches de tuberculose aviaire dont nous nous sommes servis étaient désignées sous le nom de tuberculose aviaire Osman-Noury (en abréviations : O. N.). Nous aurons donc à envisager les inoculations avec la R O. N. et la S O. N.

L'injection intracornéenne ne provoque, avec la R ou avec la S, qu'une lésion locale très circonscrite sans extension viscérale.

#### INJECTION INTRACORNÉENNE DE R O. N.

EXPÉRIENCE 25. — Un lapin de 2 kilogr. 750 reçoit, le 28 septembre 1933, une injection intracornéenne à l'œil droit de 1/10 de centimètre cube d'une émulsion à 1/1.000 de milligramme.

Dès le lendemain on constate un peu de sécrétion conjonctivale et une infiltration centrale de la cornée.

Le 3 octobre, l'infiltration est un peu plus saturée, l'iris est normal.

Le 18 octobre, l'infiltration forme une tache blanche opaque de 4 millimètres de diamètre, et il s'est développé une néoformation vasculaire partant du contour supérieur du limbe.

Le 25 octobre, la vascularisation de la zone d'infiltration lui donne l'apparence charnue.

Le 11 janvier 1934, l'opacification s'est étendue aux deux tiers de la cornée, mais la périphérie cornéenne conserve sa transparence, ce qui permet de constater l'absence de toute lésion irienne.

Le 27 juin 1934, les lésions cornéennes d'infiltration sont profondément modifiées, et on ne note plus que de très légères opacités sans aucune réaction.

Le lapin a été tué le 4 octobre 1934. Poids : 3.850 grammes. Pas de lésions pulmonaires ou viscérales.

#### INJECTION INTRACAMÉROLAIRE DE R O. N.

L'injection dans la chambre antérieure de R O. N. provoque une réaction plus manifeste, mais qui demeure localisée à l'appareil visuel.

EXPÉRIENCE 26. — Un lapin de 2 kilogr. 500 reçoit dans la chambre antérieure de l'œil droit 1/10 de centimètre cube d'émulsion de R O. N., le 28 septembre 1933.

Le lendemain existe une légère injection périkeratique, la pupille est contractée et un petit exsudat grisâtre recouvre la face antérieure de l'iris. Cet aspect persiste jusqu'au 9 octobre, jour où l'on note la présence d'un gros exsudat dans la chambre antérieure et une forte hyperémie de l'iris.

Le 13 octobre, l'exsudat de la chambre antérieure est devenu sanguinolent.

Le 31 octobre, la cornée se trouble et se distend.

Le 8 novembre, on constate de nombreux nodules caséeux dans la moitié inférieure de la chambre antérieure. Ces nodules jaunâtres forment une saillie bosselée. La distension de la cornée se poursuit surtout dans les parties inférieures donnant l'aspect d'un staphylome cornéen irrégulier.

Le 30 octobre 1934, l'aspect ne s'est pas modifié.

L'animal est tué; aucune lésion viscérale bacillaire.

### INOCULATIONS INTRACORNÉENNES DE S O. N.

L'inoculation intracornéenne de la souche S O. N. n'a donné lieu qu'à une réaction extrêmement légère et passagère.

EXPÉRIENCE 27. — Un lapin de 3 kilogrammes reçoit 1/10 de centimètre cube de l'émulsion à 1/1.000 de milligramme entre les lames cornéennes de l'œil droit le 26 octobre 1933.

Les jours suivants on ne constate aucune réaction.

Le 6 novembre, on voit au niveau du point d'injection une petite zone grisâtre qui devient blanchâtre à partir du 20 novembre et donne lieu le 29 novembre à l'apparition d'un pinceau vasculaire venant du limbe.

Le 11 janvier la vascularisation a disparu et la zone opacifiée s'éclaircit.

Dans la suite, la cornée a retrouvé sa transparence quasi complète.

Le lapin a été tué le 30 octobre 1934. Poids : 2.745 grammes. Il ne présente aucune lésion viscérale.

### INOCULATIONS INTRACAMÉRULAIRES DE S O. N.

EXPÉRIENCE 28. — Le 26 octobre 1933, on injecte dans la chambre antérieure d'un lapin de 3 kilogr. 950 1/10 de centimètre cube d'une émulsion à 1/1.000 de milligramme.

Le lendemain, on constate une légère injection périkeratique. Cornée claire, pupille faiblement contractée avec très petit liséré exsudatif.

Le 31 octobre, l'iris a repris son aspect normal. L'injection périkeratique a disparu.

Le 20 novembre, légère injection périkeratique. Très léger épaississement avec hyperémie de l'iris, quelques synéchies.

Le 15 décembre, tout est redevenu normal, l'animal a conservé sensiblement son poids jusqu'au 30 octobre 1934. Poids : 3.400 grammes. L'autopsie ne montre aucune lésion viscérale.

EXPÉRIENCE 29. — Chez un autre lapin de 2 kilogr. 520 inoculé le 28 septembre 1933 avec une émulsion mille fois plus forte (1/10 de centimètre cube d'une émulsion à 1 milligramme), il s'est produit au huitième jour une réaction irienne forte avec exsudation et contraction de la pupille, forte injection périkeratique. Le 13 octobre, cornée distendue, injection périkeratique forte. Trouble de l'humeur aqueuse empêchant de voir l'iris.

Le 25 octobre, même aspect de la cornée distendue, qui, à la périphérie, présente une vascularisation superficielle.

Le 8 novembre, le trouble de la cornée et l'exsudat irien donnent à l'œil l'aspect bigarreau qui ne subit pas de modification. L'animal est mort de pasteurellose le 2 février 1934. La recherche des bacilles acido-résistants dans le foie, la rate et le poumon a été négative.

### Expériences de prémunition oculaire par le BCG.

Les expériences de prémunition oculaire ont été conduites de la manière suivante chez une série de lapins. Il a été fait



soit par injection cornéenne, soit par injection camérulaire, vitréenne ou rétrociliaire une inoculation de BCG à la dose de 1/20 ou de 1/10 de centimètre cube de l'émulsion de BCG utilisé pour la prémunition humaine.

La guérison des lésions provoquées par ces injections s'est produite d'une manière générale dans les trois ou quatre mois qui ont suivi l'inoculation, mais nous avons attendu qu'une période de quatre à six mois depuis l'inoculation se soit écoulée pour pratiquer l'inoculation virulente. Celle-ci a été réalisée avec une émulsion extrêmement étendue de tuberculose Vallée. Nous avons pu, tout au moins chez un certain nombre de lapins, suivre l'évolution prolongée. Chez d'autres, une épidémie de pasteurellose a provoqué la mort des animaux avant le terme de nos expériences, mais nous avons pu néanmoins suivre l'évolution des lésions jusqu'à la mort des animaux.

6 lapins *témoins* ont été inoculés de tuberculose virulente de la même souche, 2 dans la cornée, 2 dans la chambre antérieure et 2 dans la région rétrociliaire.

*Inoculation dans la cornée :*

Lapin de 2.000 grammes inoculé le 12 octobre 1931, mort le 11 octobre 1932, survie un an, tuberculose pulmonaire.

Lapin de 2.400 grammes inoculé le 5 avril 1933, mort le 5 février 1934, survie dix mois, tuberculose pulmonaire.

*Chambre antérieure :*

Lapin de 2.300 grammes inoculé le 12 octobre 1932, mort le 7 mai 1933, survie sept mois, tuberculose pulmonaire.

Lapin de 2.400 grammes inoculé le 12 octobre 1931, mort le 2 mai 1932, survie sept mois, tuberculose pulmonaire.

*Région rétrociliaire :*

Lapin de 2.150 grammes inoculé le 12 octobre 1931, mort le 21 mai 1932, survie sept mois et demi, tuberculose pulmonaire.

Lapin de 2.560 grammes inoculé le 3 avril 1933, mort le 7 mai 1934, survie treize mois, tuberculose pulmonaire.

Il est bien entendu que la recherche des bacilles acido-résistants a été faite chaque fois dans les poumons et a donné des résultats positifs.

Nous allons donner un résumé de quelques observations des lapins traités et suivis.

### INJECTION PRÉMUNISANTE INTRACORNÉENNE.

EXPÉRIENCE 30. — 1 lapin de 1.935 grammes reçoit, le 25 avril 1932, une injection intracornéenne de 1/10 de centimètre cube de l'émulsion de BCG. Le 4 avril se développe un petit nodule intracornéen, dont la guérison est complète le 6 juin 1932.

Le 30 septembre 1932, on injecte 1/40 de centimètre cube d'une émulsion à 1/100.000 de tuberculose bovine virulente (tuberculose bovine Vallée Cernay).

Le 20 octobre, apparition d'un nodule grisâtre de la cornée.

Le 15 novembre, nodules intracornéens et iriens.

Le 20 décembre, distension de la cornée.

Le 10 janvier, formation de masses caséuses dans la chambre antérieure.

Le 22 mars, transformation du segment antérieur en une masse caséuse.

Le 7 avril 1933, mort avec lésions de tuberculose, pulmonaires et rénales avec abondance de bacilles acido-résistants.

EXPÉRIENCE 31. — 1 lapin de 1.700 grammes reçoit, le 29 septembre 1932, dans la chambre antérieure 1/10 de centimètre cube d'une émulsion de BCG. Il se produit une iritis nodulaire deux mois après l'inoculation, puis les lésions régressent, et la guérison est complète le 16 janvier 1933.

Le 5 avril 1933, inoculation intracornéenne de tuberculose bovine virulente (tuberculose bovine Vallée Cernay).

Le vingt-huitième jour se développe dans la cornée un petit nodule qui prend le 19 juin un aspect charnu avec vascularisation centrale. Pendant les mois qui suivent, la lésion nodulaire régresse nettement, ne laissant en mai 1934 qu'une petite facette excavée, à fond grisâtre qu'entoure un petit vaisseau partant du bord inférieur de la cornée et sans lésion de l'iris.

Ces lésions locales persistent sans modification manifeste jusqu'en novembre 1934 soit dix-huit mois après l'inoculation virulente.

L'examen des frottis faits avec le produit de grattage de la zone exulcérée, ne montre pas de bacilles acido-résistants, mais l'inoculation pratiquée à deux cobayes, le 2 novembre 1934, avec de petits lambeaux cornéens prélevés au niveau de la zone infiltrée, donne un résultat positif. Dès le 26 novembre la paroi abdominale inoculée s'indure, elle s'ulcère le 2 décembre en même temps que l'adénite inguinale se développe. Les deux cobayes meurent de tuberculose viscérale généralisée: l'un en février 1935 et l'autre en fin mars.

Il est curieux de constater la présence de bacilles virulents au niveau de la lésion cornéenne et l'absence d'extension du processus infectieux, tant à la partie périphérique de la cornée, qu'aux tissus intra-oculaires. Le lapin a été tué le 22 mars 1935 (poids 3.410 grammes). L'autopsie a montré l'absence de toute localisation viscérale tuberculeuse. Le processus infectieux est donc resté localisé au segment antérieur pendant deux ans.

### INJECTIONS INTRACAMÉRULAIRES.

EXPÉRIENCE 32. — 1 lapin de 1.740 grammes reçoit, le 5 octobre 1931, 1/20 de centimètre cube d'émulsion vaccinale de BCG dans la chambre antérieure.

Le vingt-deuxième jour, développement d'une iritis nodulaire complètement guérie le 31 décembre 1931.

Le 7 avril 1932, injection dans la chambre antérieure de 1/20 de centimètre cube d'émulsion au 1/100.000 de tuberculose Vallée.

Il se produit au vingt et unième jour une iritis nodulaire.

Le 27 juin, la cornée se distend, les nodules iriens deviennent plus apparents, caséeux, on note perforation et fonte purulente du segment antérieur.

Le 20 février, mort spontanée par tuberculose caséuse des poumons et quelques granulations du rein droit.

Sa survie a été de dix mois et demi.

EXPÉRIENCE 33. — 1 lapin de 2.410 grammes reçoit, le 5 octobre 1931, 1/20 de centimètre cube d'émulsion vaccinale de BCG.

Le vingt-deuxième jour, on constate l'existence d'une iritis nodulaire, dont la guérison est complète le 15 janvier 1932.

Le 7 avril 1932, on injecte dans la chambre antérieure 1/20 de centimètre cube de l'émulsion à 1/100.000 de tuberculose bovine virulente (Cernay).

Des lésions nodulaires de l'iris se développent le ving-septième jour évoluant vers la caséification et la fonte purulente du globe qui se produit au milieu de décembre.

L'animal meurt le 14 juin 1933 de tuberculose pulmonaire. Survie quatorze mois.

EXPÉRIENCE 34. — 1 lapin gris de 2.350 grammes reçoit, le 25 avril 1932, dans la chambre antérieure de l'œil droit, 1/10 de centimètre cube d'émulsion de BCG à 5 milligrammes par centimètre cube. Réaction locale minima, sans formations nodulaires iriennes.

Le 30 septembre 1932, on fait dans l'œil droit une injection intracaméculaire de 1/20 de centimètre cube d'une émulsion au 1/100.000 de tuberculose Vallée (Cernay). Le poids du lapin est de 3.460 grammes.

Le 24 janvier 1933, l'œil, qui n'a présenté, jusque-là, aucune réaction, s'injecte légèrement et montre sur le contour irien 3 nodules jaunâtres. En mars, deux nouveaux nodules sont apparus à côté des anciens qui ont augmenté de volume.

Le 1<sup>er</sup> mai, la cornée présente un trouble diffus avec vascularisation superficielle; les tubercules caséeux iriens ont fortement augmenté de volume et remplissent la chambre antérieure.

En juin, la cornée est distendue, et la masse caséuse blanc jaunâtre, qui remplit la chambre antérieure, donne l'aspect bigarreau.

Vers le 15 décembre 1933, la cornée se perfore, et, dans les mois qui suivent, l'œil est transformé en une masse charnue suppurante.

Le 5 novembre 1934, le globe est atrophié, mais le poids de l'animal n'a pas notablement fléchi. Il avait atteint 4.300 grammes en novembre 1933, et il pèse actuellement 3.960 grammes.

Le 1<sup>er</sup> février 1935 le lapin était encore en vie.

Il y a lieu de relever ici, d'une part, l'apparition tardive des lésions iriennes (près de quatre mois après l'inoculation virulente) et, d'autre part, la survie anormale de vingt-neuf mois.

### INJECTIONS RÉTROCILIAIRES.

EXPÉRIENCE 35. — 1 lapin de 2.300 grammes reçoit, le 25 avril 1932, une injection rétroculaire de 1/10 de centimètre cube de BCG.

Au vingt-septième jour, exsudat vitréen, qui a régressé le 25 juillet.

Le 30 septembre 1932, on inocule dans la chambre antérieure 1/20 de centimètre cube de tuberculose bovine Vallée (Cernay). Ce n'est que le 24 janvier 1933 que l'on constate quelques synéchies, et le 27 février 1933 trois nodules iriens sur le bord pupillaire. L'un de ces nodules augmente de volume.

L'animal meurt le 9 avril 1933. A l'autopsie, foyers pulmonaires, présence de bacilles acido-résistants en abondance. Pas d'autres lésions viscérales.

EXPÉRIENCE 36. — 1 lapin de 2.700 grammes reçoit dans la chambre antérieure 1/10 de centimètre cube d'émulsion de BCG. Il se produit une iritis exsudative qui est complètement guérie le 22 mars 1933.

Le 5 avril 1933, on injecte 1/10 de centimètre cube d'émulsion de tuberculose bovine Vallée (Cernay) à 1/100.000.

Au quatre-vingt-douzième jour, développement d'une iritis nodulaire. La caséification des nodules aboutit à l'aspect bigarreau, puis à la fonte purulente de l'œil le 15 décembre.

Mort spontanée le 25 janvier 1934. Grosses lésions pulmonaires. Bacilles acido-résistants abondants.

EXPÉRIENCE 37. — 1 autre lapin de 2.700 grammes, inoculé dans les mêmes conditions et aux mêmes dates, a présenté au soixante-troisième jour une iritis nodulaire, puis la fonte caséuse du globe. Il est mort le 2 février 1934 avec des lésions de tuberculose pulmonaire et bacilles acido-résistants abondants.

### Conclusions.

L'inoculation intraoculaire (cornéenne, intracaméculaire, ou vitréenne), chez le lapin, de bacilles tuberculeux du type bovin, de BCG, ou de bacilles bovins ou humains spontanément atténués (souche Uhlenhuth, souche Saranac), donne lieu à des réactions pathogènes essentiellement différentes.

Le bacille bovin virulent provoque toujours, même à des doses très faibles, des lésions inflammatoires envahissantes qui déterminent la destruction, par fonte caséuse, du globe et se propagent à distance, plus spécialement aux poumons. La prolifération bacillaire est constante et se poursuit sans rémission. La mort de l'animal, conséquence des lésions pulmonaires, survient après une survie qui peut varier de sept à treize mois.

Pour le BCG, de même que pour les tuberculoses spontanément avirulentes, les lésions provoquées par l'inoculation intracornéenne ou intracaméculaire sont en rapport avec la quantité de bacilles inoculés; mais, quelle que soit l'importance de ces lésions, elles restent strictement localisées au



point inoculé; elles ne manifestent jamais de tendance extensive et ne se propagent jamais aux viscères ou aux poumons.

Avec l'exsudat intracornéen ou intracamérulaire provoqué par l'injection de doses, relativement fortes de BCG, et malgré la présence de bacilles acido-résistants dans cet exsudat, il nous a été impossible de provoquer des lésions oculaires chez le lapin ou le cobaye. Contrairement aux affirmations de Kirchner, le passage de l'abcès intracornéen du lapin de première inoculation à un autre lapin neuf ne nous a pas permis de réaliser des lésions indiquant un passage du BCG. La quantité de bacilles prélevés dans le petit abcès cornéen, résultant d'une première inoculation est, évidemment, très inférieure à celle introduite, ce qui semble prouver l'absence de végétation du BCG, tant au niveau de la cornée que de la chambre antérieure.

\* \*

Les expériences faites avec les bacilles tuberculeux dissociés (R et S) nous ont montré, d'une manière générale, que pour la tuberculose bovine, la souche R se comportait, vis-à-vis de l'œil, comme la culture contenant à la fois R et S.

Par contre, la souche S s'est montrée, dans les mêmes conditions de dose, dépourvue de toute aptitude pathogène. Si l'on augmente la quantité de bacilles inoculés, on peut évidemment provoquer des lésions iridociliaires exsudatives, mais ces lésions restent circonscrites à l'œil et ne manifestent aucune tendance extensive.

La même observation s'applique aux souches dissociées R et S du bacille tuberculeux aviaire, du BCG, inoculées à l'œil du lapin.

\* \*

Nos expériences de prémunition à l'aide du BCG à l'égard du bacille tuberculeux bovin ont été conduites de la manière suivante :

Une injection de BCG était faite dans la cornée ou dans la chambre antérieure, ou dans l'espace rétrociliaire. Après quelques mois, alors que tous les symptômes locaux avaient disparu, nous avons fait soit dans la cornée, soit dans la

chambre antérieure, une injection de très petites doses d'émulsion de tuberculose bovine virulente. Chez la plupart des animaux, les lésions provoquées par cette dernière inoculation ont évolué dans les mêmes conditions que chez les témoins et l'infection s'est généralisée, entraînant la mort dans des délais semblables.

2 lapins ont fait exception et ont été, semble-t-il, prémunis. 1 lapin (exp. 31), inoculé de BCG dans la chambre antérieure, puis de tuberculose virulente dans la cornée, a présenté une kératite qui a régressé après quelques mois. L'animal est encore vivant dix-neuf mois après l'inoculation virulente.

Un autre lapin (exp. 34) a reçu dans la chambre antérieure l'injection de BCG, puis, après cinq mois, dans la chambre antérieure également, l'injection de tuberculose bovine. L'apparition d'une iritis nodulaire a été tardive (quatre mois environ). La fonte caséuse du globe s'est produite dans l'espace de onze mois. L'animal est encore vivant vingt-cinq mois après l'injection virulente, alors que tous les lapins témoins sont morts dans un délai de sept mois et demi à treize mois.

En raison de la gravité particulière de la tuberculose bovine pour le lapin et du fait que, chez l'homme, l'action prémunisante du BCG doit s'exercer à l'égard du bacille tuberculeux humain et non du bacille tuberculeux bovin, nous ne pensons pas que l'on soit autorisé à tirer de ces expériences des conclusions relatives à l'action prémunisante du BCG chez l'enfant.

## TENTATIVES DE TRANSMISSION HÉRÉDITAIRE DE L'INFECTION SYPHILITIQUE INAPPARENTE CHEZ LA SOURIS BLANCHE

par MM. C. LEVADITI, A. VAISMAN, M<sup>lles</sup> R. SCHOEN et Y. MANIN.

Depuis 1907, de nombreux essais ont été réalisés sur le lapin, afin de préciser si la syphilis expérimentale de cette espèce animale se transmet héréditairement, et dans quelles conditions. La plupart des chercheurs [Bertarelli (1), Simonelli (2), Arman (3), Gravagna (4), Lombardo (5), Uhlenhuth et Mulzer (6)], n'ont enregistré que des résultats négatifs, en ce sens que jamais ils n'ont révélé, chez les rejetons issus de procréateurs syphilités (kératite spécifique ou orchite tréponémique), des signes cliniques ou microbiologiques plaidant en faveur d'une hérédo-syphilis incontestable. Certains auteurs ont, cependant, remarqué chez les descendants, soit de la mortinatalité, soit des dystrophies diverses. Seuls Wiman (7), Arzt et Kerl (8), Brown et Pearce (9), Gregoriew et Jariskewa (10) ont relaté quelques rares résultats positifs. Ainsi Wiman a remarqué qu'un rejeton procréé par une lapine atteinte de syphilis généralisée, a présenté, à l'âge de trois semaines, une kératite tréponémique. Par ailleurs, Arzt et Kerl disent avoir démontré, par inoculation à des animaux réceptifs, la présence du virus syphilitique chez des rejetons nés de mère syphilitée. Enfin, Brown et Pearce affirment que

(1) BERTARELLI. *Rivista d'Igiene*, **18**, 1907, p. 259 et 616.

(2) SIMONELLI. *Giorn. ital. d. malatt. vener.*, **49**, 1908, p. 213.

(3) ARMAN, cité d'après Mulzer. *Experimentelle Syphilis, Handb. d. Haut u. geschlechtskrankh.*, **15**, 1927, p. 258; J. Springer, Berlin.

(4) GRAVAGNA, *Idem*.

(5) LOMBARDO. *Giorn. ital. d. malatt. vener.*, **52**, 1911, p. 278.

(6) UHLENHUTH, dans Mulzer. Cf. n° 3.

(7) WIMAN. *Arch. f. Dermatol. u. Syphilis*, **93**, 1908, p. 379.

(8) ARZT et KERL. *Wien. klin. Woch.*, **27**, 1914, p. 775 et 1052.

(9) BROWN et PEARCE, cités d'après Mulzer. *Loc. cit.*

(10) GREGORIEW et JARISKEWA, cités d'après Mulzer et Hahn. *Münch. med. Woch.*, 1929, n° 45, p. 1867.

deux lapereaux, issus de lapines infectées, ont présenté, l'un une kératite spécifique, l'autre de l'alopécie. Ajoutons que, d'après Uhlenhuth et Mulzer (1), l'inoculation du virus spécifique par voie intraveineuse peut déterminer, chez les lapines pleines, une localisation rapide du germe dans le placenta.

L'un de nous, en collaboration avec Marie et Isaïcu (2), avait, dès 1923, soumis à une étude expérimentale précise le problème de la transmission héréditaire de l'infection engendrée, chez le lapin, soit par le *Treponema pallidum*, soit par le *Spirochæta cuniculi* (Jacobsthal). Voici les conclusions de ce travail :

« Des différences fondamentales existent entre ce qui se passe, du point de vue de l'hérédité, dans la syphilis humaine d'une part, la syphilis expérimentale du lapin et la spirochétose spontanée de cette espèce animale, d'autre part. Rien de ce que l'on observe chez l'homme, ni la transmission héréditaire de l'infection, ni les phénomènes qui entrent dans le cadre de la loi de Profeta, ne se rencontrent chez le lapin, du moins si l'on en juge d'après nos expériences. Hormis les arrêts de développement, la mort prématurée des rejetons et la mortinatalité (qui ne sauraient d'ailleurs être attribués avec certitude aux facteurs héréditaires proprement dits), tout se passe comme si les rejetons avaient été procréés par des générateurs sains. » De tels rejetons sont, en outre, susceptibles de contracter l'infection spécifique, lors d'une inoculation d'épreuve pratiquée quelque temps après leur naissance.

\*  
\* \*

Nous venons de voir que chez le lapin, la transmission héréditaire de la syphilis est des plus rares. Comment se comportent, de ce point de vue, les muridés, en particulier les souris blanches? On sait, actuellement, que les souris sont susceptibles de contracter une syphilis expérimentale cliniquement occulte, mais microbiologiquement apparente. Des tré-

(1) UHLENHUTH et MULZER, dans Mulzer. *Handb. der Haut u. Geschlechtskrankh.*, 15, 1927, p. 262, J. Springer, Berlin.

(2) LEVADITI, MARIE et ISAÏCU. *C. R. Soc. Biol.*, 85, 1921, 342; LEVADITI et MARIE. *Arch. de Neurologie*, 1, 1923, p. 1 et 41.



ponèmes sont, en effet, présents (souvent en grand nombre) dans leurs ganglions lymphatiques périphériques, et, de plus, leur névraxe est éminemment virulent pour le lapin [Jahnel et Prigge (1), Levaditi et Schoen (2), Schlossberger (3), Li Yuan Po (4), P. Lépine (5), etc.]. Il nous a semblé tout indiqué d'utiliser cet excellent matériel pour étudier, expérimentalement, la transmissibilité héréditaire de la syphilis chez les muridés.

En fait, quelques essais préliminaires ont été relatés, en 1929, par P. Mulzer et C. F. Hahn (6), laissant espérer que les recherches entreprises sur la souris seraient plus fructueuses que celles réalisées sur le lapin. Les auteurs, après avoir confirmé l'existence d'une syphilis expérimentale inapparente chez la souris blanche, entreprennent des essais d'hérédosyphilis sur cette espèce animale, en contaminant, au préalable, soit le mâle, soit la femelle, soit les deux conjoints à la fois. Ils commencent par établir que la spécificité des procréateurs ne se manifeste dans la descendance, ni par la mortalité, ni par la stérilité, et encore moins par des dystrophies. Cependant, dans un cas, ils observent la contamination des rejetons, qu'ils prouvent par l'inoculation de leurs organes à des lapins. Ceux-ci font une syphilis inapparente, vérifiée par une seconde inoculation de leur foie et rate à d'autres sujets neufs. Enfin, Mulzer et Hahn disent avoir observé la contamination d'une femelle fécondée par un mâle syphilité.

Les investigations de Mulzer et Hahn s'arrêtent là. Nous verrons, par la suite, que si nos recherches confirment ces auteurs, en ce qui concerne le comportement de la progéniture du point de vue de la mortalité, des dystrophies, ou encore de la fécondité des parents syphilités, par contre, elles n'ont abouti qu'à des résultats négatifs quant à la transmission réelle de l'infection des procréateurs à leurs descendants.

(1) JAHNEL et PRIGGE. *Deutsche med. Woch.*, 55, 1929, p. 694.

(2) LEVADITI et SCHOEN. *C. R. Soc. Biol.*, 109, 1932, p. 811. Cf. également LEVADITI, VAISMAN, SCHOEN et MEZGER. Ces *Annales*, 50, 1933, p. 222.

(3) SCHLOSSBERGER. *Ctbl. f. Bakteriöl.*, 104, 1927, p. 237.

(4) LI YUAN PO. *C. R. Soc. Biol.*, 105, 1930, p. 541.

(5) P. LÉPINE. *C. R. Soc. Biol.*, 101, 1929, p. 777.

(6) MULZER et HAHN. *Münch. med. Woch.*, 76, n° 45, 1929, p. 1867; *Arch. f. Hygiene*, 103, 1930, p. 95.

## I. — Technique.

Des couples de souris sont constitués, couples dont, soit le mâle, soit la femelle, soit les deux conjoints, sont infectés par greffes sous-cutanées de fragments de syphilomes de lapin (souche Truffi). L'inoculation est effectuée à une ou plusieurs reprises, avant l'accouplement. Le temps écoulé entre la greffe virulente et la mise en présence du mâle et de la femelle, varie dans de très larges limites. Les couples, placés dans une chambre obscure, sont dans des conditions de température et d'alimentation favorables à la reproduction. On enregistre avec précision les portées, le sort des rejetons, la cessation de la fécondation.

La transmission héréditaire de l'infection syphilitique expérimentale est vérifiée par deux procédés se complétant l'un l'autre : 1° examen histologique des divers organes des rejetons par la méthode de Dieterlé, de même que celui des ganglions lymphatiques, de la rate, du cerveau, de l'ovaire, de l'utérus et des testicules des procréateurs, sacrifiés soit au moment de la parturition, soit quelque temps après; 2° inoculation des organes des souriceaux au lapin, par voie sous-scrotale. Cette inoculation est effectuée, dans certains cas, avec le foie, la rate, les ganglions lymphatiques, ou le cerveau utilisés isolément; dans d'autres cas, avec un mélange de ces divers tissus. Les lapins-*test* sont maintenus en observation pendant au moins quatre-vingt-dix jours. Nous nous sommes également préoccupés de la possibilité d'une *syphilis inapparente* chez eux, en pratiquant des passages à l'aide de leurs glandes lymphogènes périphériques.

*L'influence de l'infection tréponémique des procréateurs sur la descendance*, du point de vue de la fécondité et de la mortalité, a été étudiée en constituant deux séries d'expériences, comportant, chacune, le même nombre de couples, mais dont les uns sont contaminés, alors que les autres servent de témoins.

Afin de déterminer le comportement des rejetons issus de procréateurs syphilitisés à l'égard d'une nouvelle infection spécifique,

des nourrissons d'âge variable ont été réinfectés suivant la même technique et avec la même souche de virus. Les tréponèmes ont été recherchés dans les organes, en particulier dans les glandes lymphogènes périphériques, organes dont on a également déterminé la virulence par des inoculations sous-scutales pratiquées à des lapins.

\*  
\* \*

L'exposé des résultats de nos investigations se rapporte aux sujets suivants :

1° *L'incidence de l'infection spirochétienne des organes reproducteurs (utérus, ovaire, testicule) chez les souris mâles ou femelles syphilitisées expérimentalement ;*

2° *La topographie du Treponema pallidum dans ces organes ;*

3° *L'influence du cycle oestral folliculinique sur la tréponémose utéro-ovarienne des souris castrées ou non castrées ;*

4° *La réceptivité des jeunes souriceaux à l'égard du virus spécifique ;*

5° *La transmission héréditaire de l'infection, suivant que le mâle, la femelle, ou les deux conjoints sont contaminés avant, ou après l'accouplement ;*

6° *L'influence de la syphilis paternelle et maternelle sur la fécondation, la fréquence des naissances et la mortalité ;*

7° *Le comportement des rejetons issus de procréateurs syphilitisés à l'égard d'une inoculation virulente effectuée quelque temps après la naissance (état réfractaire) ;*

8° *L'éventualité d'une transmission de la syphilis par ingestion de lait (après infection expérimentale des glandes mammaires) ;*

9° *Enfin, le problème de la contamination de l'un des procréateurs par le conjoint, lorsque le couple a fourni des preuves de fécondité.*

A chacun de ces sujets d'étude, nous consacrerons un chapitre à part.

## II. — L'incidence de l'infection spirochétienne des organes reproducteurs (utérus, ovaire, testicule) chez les souris mâles et femelles syphilitisés expérimentalement.

Dans une note présentée le 9 octobre 1933, à l'Académie des Sciences (1), Levaditi, Hornus, Vaisman et Schœn ont montré que le *virus syphilitique* peut être décelé dans l'ovaire des souris blanches syphilitisées depuis cent soixante-cinq jours. Ils ont rapproché cette constatation de la présence du *Treponema pallidum* dans l'ovaire et les ovocytes des nouveau-nés hérédosyphilitisés, établie par Hoffmann et Wolters (2), Levaditi et Sauvage (3), Magalhaes (4), Bab (5) et Simmonds (6), entre autres. Dans une seconde note, datant du 27 novembre 1933, Levaditi, Schœn, Manin et Vaisman (7) ont prouvé que le testicule des souris mâles, infectées depuis cent soixante-quatre jours, renferme le virus spécifique inoculable avec succès à des lapins réceptifs. Voici, en résumé, les faits invoqués en faveur de ces assertions :

a) *Infectiosité de l'ovaire.* — 12 souris blanches (6 mâles et 5 femelles) sont infectées le 17 octobre 1932, par greffes de chancre Truffi, insérées sous la peau de la région dorsale. Les premiers essais de virulence sont effectués le 16 décembre, soixante jours après l'inoculation. Huit de ces souris (dont 4 mâles et 4 femelles) sont sacrifiées à cette date. D'une part, les testicules, d'autre part, les ovaires, sont inoculés, par voie sous-scutale, à des lapins neufs. Des inoculations analogues sont pratiquées avec les ganglions lymphatiques inguinaux et axillaires. Alors que l'épreuve de ces ganglions a fourni des résultats nettement positifs (apparition de syphilomes le cinquante-cinquième jour), par contre, les greffes réalisées avec les testicules et les ovaires se sont révélées dénuées de tout pouvoir pathogène. Ces données, ainsi que la présence de tréponèmes dans les ganglions lymphatiques des souris mâles (examen sur coupes imprégnées à l'argent, méthode de Dier-telé), montrent que soixante jours après l'inoculation du virus syphilitique, ce

(1) LEVADITI, HORNUS, VAISMAN et SCHOEN. C. R. Acad. des Sciences, 197, 1933, p. 798.

(2) HOFFMANN et WOLTERS, dans HOFFMANN. Die Etiologie der Syphilis. Berlin, Springer, 1906.

(3) LEVADITI et SAUVAGE. C. R. Acad. des Sciences, 143, 1906, p. 559.

(4) MAGALHAES. Do *Treponema pallidum*, Thèse de Rio de Janeiro, 1906.

(5) BAB. Berl. klin. Woch., 44, 1907, p. 34 et 1094.

(6) SIMMONDS. Münch. med. Woch., 53, n° 27, 1906, p. 1302.

(7) LEVADITI, SCHOEN, MANIN et VAISMAN. C. R. Acad. Sciences, 197, 1933, p. 1364.



*virus se retrouve dans le système lymphatique périphérique, mais paraît absent des organes germinatifs, testicule et ovaire.*

Le second essai eut lieu le 31 mars 1933, soit cent soixante-cinq jours après l'infection. Deux souris mâles (41 B et 42 B) et deux souris femelles (39 B et 40 B) ont été sacrifiées à cette date. Les ganglions lymphatiques des deux souris mâles ont été inoculés aux lapins 485, 486, 487, 488 et 489 U. Parmi ces animaux, quatre ont réagi par des syphilomes scrotaux typiques. D'ailleurs, ces ganglions contenaient le *Treponema pallidum*. Les glandes lymphatiques des deux souris femelles ont été administrées aux lapins 475, 476, 477, 478 et 479 U. Trois de ces lapins ont montré, le cinquante cinquième jour, des chancres scrotaux riches en spirochètes (présence de rares parasites sur les coupes de ces glandes). Cet essai montre que le virus syphilitique était présent dans le système lymphatique périphérique de nos souris mâles et femelles, cent soixante-cinq jours après l'infection.

L'inoculation des ovaires a fourni trois résultats nettement positifs. En effet, sur les quatre lapins utilisés dans cette épreuve, trois (480, 481 et 483 U) ont montré des syphilomes scrotaux le soixante-treizième jour.

Il en résulte que *cent soixante-cinq jours après l'inoculation sous-cutanée du virus syphilitique à des souris femelles, ce virus peut être décelé dans les ovaires.*

b) *Infectiosité des testicules.* — L'inoculation d'une émulsion testiculaire provenant de souris mâles contaminées depuis cent soixante-quatre jours, a déterminé, chez le lapin, l'éclosion d'un syphilome scrotal le quarante-cinquième jour. Il en fut de même de l'injection des ganglions lymphatiques périphériques de ces animaux.

Ces expériences prouvent que *le virus spécifique peut être décelé dans le testicule, chez des souris mâles injectées par greffe sous-cutanée, cent soixante-quatre jours avant l'examen.*

\* \*

Ces constatations, concernant la virulence de l'ovaire et du testicule des souris femelles et mâles en proie à une syphilis cliniquement inapparente, ont été complétées par la découverte du *Treponema pallidum* dans les organes reproducteurs de ces sujets. On savait déjà, grâce aux recherches de Jahnelt et Prigge (1) et de Levaditi et Schœn (2), que la virulence des ganglions lymphatiques périphériques des souris syphilitiques était souvent liée à la présence de spirochètes dans ces gan-

(1) JAHNEL et PRIGGE. *Deutsch. med. Woch.*, 55, 1929, p. 694.

(2) LEVADITI et SCHÖN. *C. R. Soc. Biol.*, 109, 1932, p. 811; Cf. également LEVADITI, VAISMAN, SCHÖN, et MEZGER. *Ces Annales*, 50, 1933, p. 222.

glions, spirochètes décelables par les méthodes argentiques (Jahnel, Dieterlé). En était-il de même de la virulence des organes germinatifs? Les observations relatées par Levaditi, Schoen, Manin et Vaisman (1) répondent affirmativement. En effet, dans une première communication présentée à la *Société de Biologie* (4 novembre 1933), les auteurs rapportent les résultats de leurs examens histologiques concernant les cornes utérines de souris femelles, infectées par voie sous-cutanée et intraveineuse, cent soixante-quatre jours avant l'examen; ces femelles avaient appartenu à deux couples, dont un fécond, l'autre stérile. Les examens ont démontré la présence du *Treponema pallidum* dans la couche musculaire et au contact des *épithéliums de l'endomètre*.

Ultérieurement (27 novembre 1933), les mêmes chercheurs (1) réussissent à rattacher la virulence des ovaires à la présence du spirochète pâle dans ces organes. En effet, des parasites typiques ont été décelés dans l'ovaire d'une souris infectée depuis cent soixante jours.

De l'ensemble de ces constatations préliminaires, Levaditi et ses collaborateurs concluaient que le *testicule, l'ovaire et les cornes utérines des souris blanches contaminées depuis cent cinquante jours, contiennent le virus syphilitique. Sa présence est souvent liée à celle du Treponema pallidum dans l'ovaire et dans les cornes de l'utérus. L'appareil reproducteur mâle et femelle est donc contaminé dans son ensemble chez des animaux en âge de se reproduire. L'ovule est ainsi exposé à l'infection tréponémique, non seulement pendant sa nidation, mais encore lors de sa genèse et de son évolution intra-utérine.*

\* \* \*

Il apparaissait donc intéressant de préciser l'incidence de l'infection utéro-ovarienne, par rapport à celle de la contamination du système lymphatique périphérique, chez les souris atteintes de tréponémose cliniquement inapparente. C'est ce que nous avons fait, en utilisant un matériel expérimental, aussi riche que varié. Cette incidence a été déterminée en

(1) LEVADITI, SCHOEN, MANIN, et VAISMAN. *C. R. Soc. Biol.*, **114**, 1933, p. 687; *C. R. Acad. des Sciences*, **197**, 1933, p. 1364.

TABLEAU I. — Incidence de l'infection spirochétienne utéro-ovarienne chez les souris blanches contaminées par voie sous-cutanée (1).

SOURIS	INOCULATION en jours	SPIROCHÈTES		
		Utérus	Ovaires	Ganglions
AR. . . . .	7	0	0	0
241 B. . . . .	28	0	0	+++
246 B. . . . .	28	0	0	++
AX. . . . .	29	—	0	0
BF. . . . .	31	—	0	0
259 B. . . . .	48	0	0	0
273 B. . . . .	48	0	0	+++
279 B. . . . .	48	0	0	0
293 B. . . . .	48	0	0	+
191 B. . . . .	57	0	0	+++
AE. . . . .	57	—	0	+
243 B. . . . .	62	0	0	+++
214 B. . . . .	62	0	0	+++
215 B. . . . .	62	0	0	+++
216 B. . . . .	62	0	0	+
217 B. . . . .	62	++	±	+
218 B. . . . .	62	+++	+	+++
254 B. . . . .	85	0	0	++
475 B. . . . .	87	+++	0	++
476 B. . . . .	87	0	0	+
477 B. . . . .	87	0	0	++
478 B. . . . .	87	0	0	+
480 B. . . . .	87	+	0	++
481 B. . . . .	87	±	0	++
283 B 2 ♀ . . . . .	95 1 <sup>re</sup>	+	0	+++
	27 2 <sup>e</sup>			
299 B 2 ♀ . . . . .	100 1 <sup>re</sup>	0	0	+++
	27 2 <sup>e</sup>			
179 B. . . . .	114	0	0	0
181 B. . . . .	114	0	0	+++
323 B. . . . .	119	0	0	+++
326 B. . . . .	119	0	0	+++
440 B. . . . .	119	0	±	+++
441 B. . . . .	119	0	0	+++
442 B. . . . .	119	+	+	++++
443 B. . . . .	119	0	0	+
354 B 2 ♀ . . . . .	153	0	0	+
138 B. . . . .	160	+++	+	+++
AK-AN. . . . .	163	+++	0	+++
AS. . . . .	183	++	+	+
60 B. . . . .	195	+	+	0
Z . . . . .	245	0	0	++

(1) Signes : + —, très rares tréponèmes; +, rares parasites; ++, spirochètes nombreux; +++, grand nombre de spirochètes; 2 ♀ : deux inoculations virulentes.

considérant l'ensemble des signes infectieux de l'appareil reproducteur, soit : la virulence de l'utérus et de l'ovaire, d'une part, la présence de tréponèmes dans ces deux organes, d'autre part. Les résultats enregistrés montrent qu'elle atteint

des chiffres étonnamment élevés. Nous reproduisons ci-contre un tableau d'ensemble (*Tableau I*), où se trouvent indiquées : 1° la période écoulée entre l'inoculation du virus Truffi et le moment où l'examen a été pratiqué; 2° la présence des parasites dans l'utérus, les ovaires et les ganglions lymphatiques périphériques axillaires et inguinaux.

Les données résumées dans le *Tableau I* montrent que sur un ensemble de 40 souris examinées [dont 33 (soit 82,5 p. 100) étaient atteintes de tréponémose microbiologiquement apparente, attendu que leurs ganglions lymphatiques périphériques étaient parasités], la spirochétose utérine a été relevée dans 11 cas (27,5 p. 100) et la parasitose ovarienne dans 7 cas (soit 17,5 p. 100). Par ailleurs, si l'on tient compte exclusivement de l'incidence de l'infection tréponémique chez les 33 animaux à ganglions visiblement contaminés, on obtient les résultats suivants :

*Durée de l'infection : vingt-huit à deux cent quinze jours.*

Total des souris : 33.  $\left\{ \begin{array}{l} \text{Infection utérine : 33,3 p. 100.} \\ \text{Infection ovarienne : 21 p. 100.} \end{array} \right.$

Si, en outre, on considère le fait que nous n'avons examiné (1), en général, que deux à trois coupes d'ovaires et d'utérus par animal, et que, dans ces conditions, de rares tréponèmes ont pu échapper à nos investigations, il ressort des chiffres exposés ci-dessus que chez les souris atteintes de tréponémose cliniquement inapparente, la parasitose utéro-ovarienne est fréquente. Loin d'égaliser celle du système lymphatique périphérique (84 p. 100), cette parasitose des organes reproducteurs montre, néanmoins, que l'orule, l'embryon et le fœtus sont exposés à une contamination tréponémique dans un nombre impressionnant de cas. Nous verrons, dans ce qui suit, si cette menace d'infection *ab ovo* et *in utero*, est véritablement aussi efficiente que le laissent justement présumer les conclusions énoncées ci-dessus.

En attendant, constatons que si la tréponémose ganglionnaire se manifeste dès le vingt-huitième jour après l'inoculation, celle de l'utérus et de l'ovaire est nettement plus tardive, attendu que nous ne l'avons révélée qu'à partir du soixante-

(1) Les examens des coupes ont été pratiqués à la fois par M. Levaditi et M<sup>lle</sup> R. Schœn.



deuxième jour. Il semblerait donc que l'*envahissement du système lymphatique par le Treponema pallidum soit obligatoire et précoce, tandis que la parasitose utéro-ovarienne n'est que facultative et manifestement plus tardive*. Remarquons, par ailleurs, qu'en règle générale, l'utérus est plus riche en spirochètes que l'ovaire.

Enfin, insistons sur ce fait, en apparence paradoxal, à savoir que, dans bon nombre de cas, *il nous a été impossible de déceler le spirochète pâle dans les testicules des souris mâles atteintes de tréponémose expérimentale, et cela malgré la virulence de ces organes et la parasitose intense du système lymphatique périphérique*. De tels testicules se sont d'ailleurs montrés exempts de toute altération microscopique et de toute modification apparente de la spermatogenèse (1). Ces constatations, relatées déjà par Levaditi, Schœn, Manin et Vaisman (*loc. cit.*), sont confirmées par nos recherches actuelles. Elles laissent supposer que, conformément à l'hypothèse, devenue de plus en plus plausible, de l'existence d'une phase infravisible du virus syphilitique, *la virulence du testicule est due non pas au tréponème, mais, précisément, à cette phase ultramicroscopique du germe*.

### III. — Topographie du tréponème au sein de l'appareil reproducteur femelle.

Considérons, tour à tour, l'ovaire et l'utérus.

a) OVAIRE. — Quelle que soit la phase du cycle œstral où les examens ont été pratiqués, peu importe, par ailleurs, s'il s'agit d'animaux stériles ou féconds, un fait est hors conteste : aucune modification bien nette de l'ovulation n'est provoquée par la présence du *Treponema pallidum* dans l'ovaire des souris atteintes de tréponémose cliniquement inapparente. En effet, les ovaires parasités montrent de nombreux ovocytes à toutes les phases de leur cycle évolutif, et, suivant le cas, des corps jaunes plus ou moins développés. *L'infection tréponémique de*

(1) On sait, d'ailleurs, que l'inoculation du virus syphilitique dans le testicule de la souris, ne détermine pas d'orchite tréponémique, mais permet la généralisation de l'infection (*Cf. Li Yuan Po, cité page 586*).

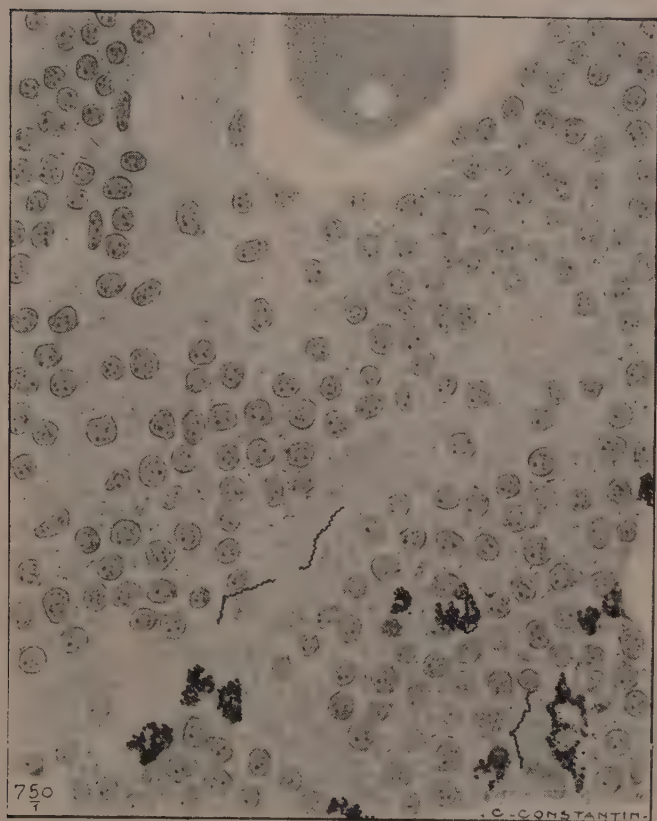
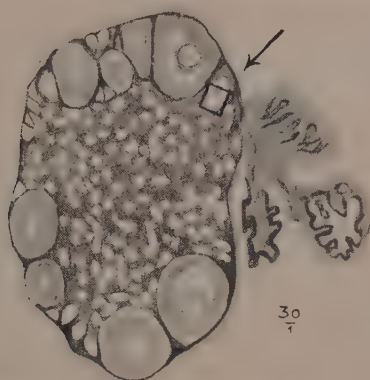


FIG. 1. — *En haut*, souris 138B. Emplacement de la région ovarienne contaminée. *En bas*, tréponèmes dans le tissu interstitiel qui sépare les follicules de Graaf. Dieterlé. Gross. : 750/1.

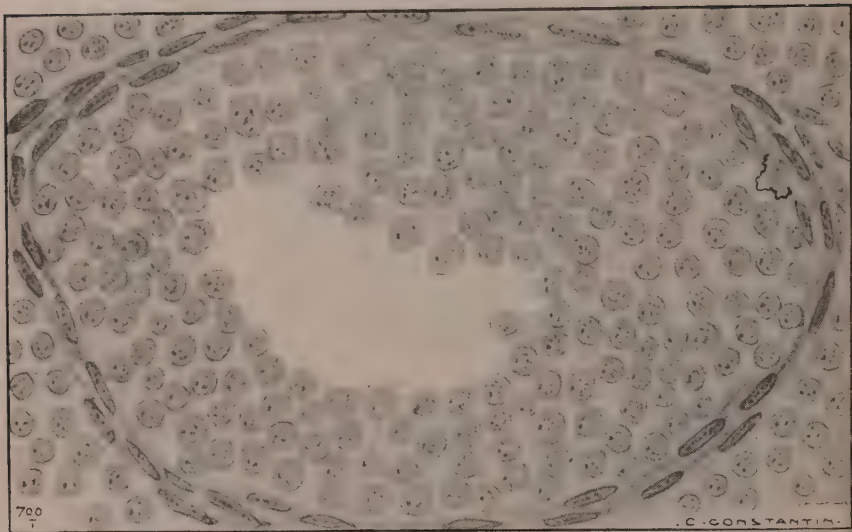


FIG. 2. — *Souris 479 B.* Présence d'un tréponème contre la paroi d'un follicule de Graff. Dieterlé. Gross. : 700/1.

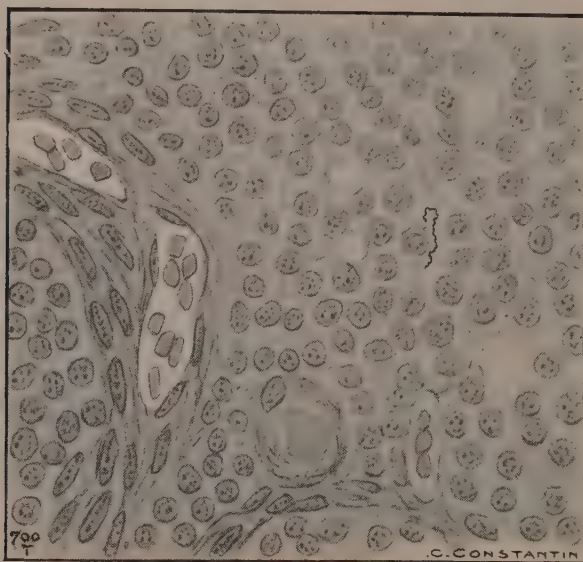


FIG. 3. — *Souris 442.* Tréponèmes dans le tissu interstitiel de l'ovaire près d'un vaisseau. Dieterlé. Gross. : 700/1.

*l'ovaire est donc compatible avec une ovogenèse parfaitement normale.* Cette constatation histologique est, en outre, confirmée par la fécondité des femelles syphilitées, ainsi que nous aurons l'occasion de le démontrer ci-après.

Les parasites, dont le nombre est des plus variables, sont logés dans le parenchyme ovarien, soit au voisinage des parois

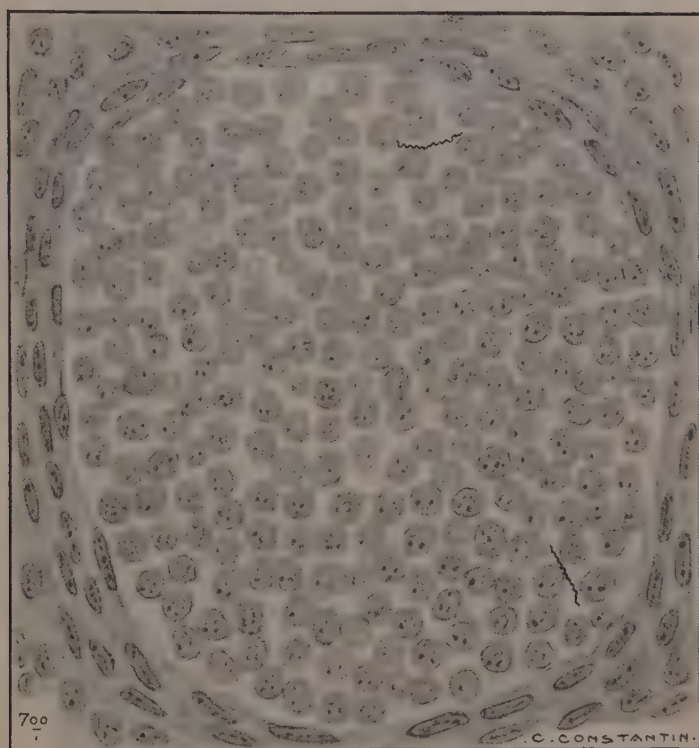


FIG. 4. — *Souris femelle du couple AS.* Tréponèmes parmi les cellules folliculaires d'un follicule de Graff athrésié. Dieterlé. Gross. : 700/1.

vasculaires, soit à proximité des ovocytes, au contact même des cellules folliculaires (fig. 1, 2, 3 et 4). On en décèle qui s'insinuent entre les épithéliums de la paroi des follicules de Graff, surtout lorsque ces follicules paraissent athrésiés. Quoiqu'il en soit, nous n'avons jamais décelé le *Treponema pallidum*, ni dans les ovocytes mêmes, ni dans l'ovisac, ou le liquor folliculi. Contrairement à ce qu'il advient chez les enfants hérédo-



syphilitiques [Cf. fig. 5] (1), où l'on voit le spirochète envahir l'ovule et se nicher dans des vacuoles cytoplasmiques, pour y revêtir l'apparence des formes involutives, ici, le parasite évite l'ovocyte. Il le cotoie, le touche de très près, mais ne l'envahit jamais. Faut-il en conclure que l'œuf reste totalement à l'abri de la contamination, et que le virus n'y diffuse pas à l'état infravisible? Aucun fait expérimental précis ne nous permet actuellement de l'affirmer.

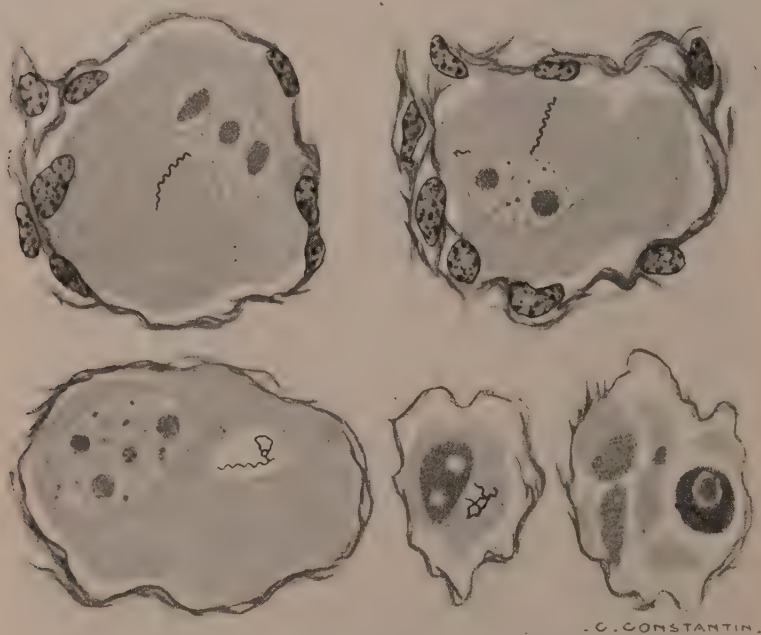


FIG. 5. — Tréponèmes dans les ovocytes.  
chez un enfant hérédo-syphilitique. Méthode de Levaditi.

b) UTÉRUS. — L'examen a porté sur les trompes, les cornes utérines et le corps même de l'utérus. Les altérations microscopiques constatées sont en rapport avec le cycle œstral de l'animal en observation. Tantôt l'utérus offre la structure normale de l'organe à l'état de repos, tantôt on y décèle les modifications diapédétiques, néoformatives et desquamatives, traduisant telle ou telle phase de l'*œstrus*. Le nombre des tréponèmes

(1) D'après LEVADITI et ROCHÉ. *La Syphilis*, Paris, Masson, 1907, p. 313.



Fig. 6. — *Souris 323*. Spirochètes au contact de la muqueuse utérine.  
Dieterlé. Gross. : 700/1.

varie considérablement. On en découvre parfois autant que dans un syphilome incipient, sans que leur présence déclenche des altérations cytologiques rappelant celles qui caractérisent l'infection spécifique. Ni endo-vascularite, ni plasmotocytose périvasculaire. Les parasites sont décelables, soit autour des vaisseaux de la couche des fibres lisses, soit à proximité des épithéliums des glandes et de la muqueuse de l'endomètre, au niveau du chorion (fig. 6, 7 et 8). Les tréponèmes s'insinuent

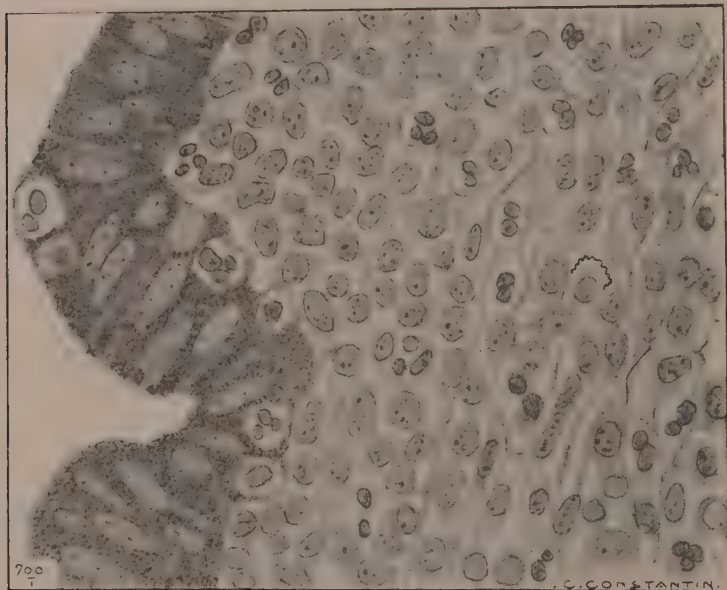


FIG. 7. — *Souris femelle couple AS. Oestrus. Tréponème dans l'utérus au voisinage de l'endomètre.* Dieterlé. Gross. : 700/1.

entre les épithéliums glandulaires et se dirigent vers la surface de la muqueuse utérine. Contrairement à ce qui a lieu chez les animaux atteints de la spirochétose provoquée par le *Spirochæta muris* (1), nous n'en avons jamais décelé, jusqu'à présent du moins, dans la lumière même de la cavité utérine. Rares spirochètes dans les trompes.

Ainsi, la *topographie* du *Treponema pallidum* dans les trompes,

(1) Cf. les recherches de LEVADITI, SCHOEN et VAISMAN. *C. R. Acad. des Sciences*, 198, 1934, p. 1274; *C. R. Soc. de Biologie*, 116, 1934, p. 934.

*l'ovaire et l'utérus des souris en proie à une tréponémose cliniquement inapparente, montre à quel danger de contamination sont exposés l'ovule, l'embryon et le fœtus, en d'autres mots, ce qui, plus tard, représentera le rejeton issu de procréateurs*

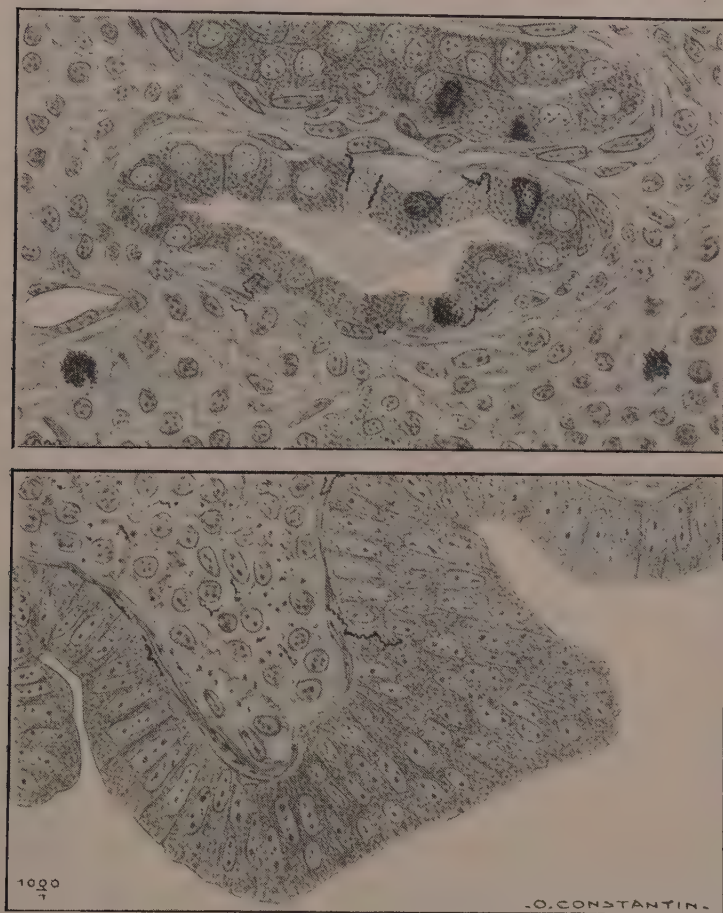


FIG. 8. — *Souris syphilitique depuis cent soixante-quatre jours. Cornes utérines. Tréponèmes parmi les épithéliums des glandes et de la muqueuse utérines. Dieterlé. Gross. : 4.000/1.*

*syphilitisés. L'ovocyte est menacé dès son apparition, l'embryon dès les premiers stades de son évolution, le fœtus pendant toute la durée de sa vie intra-utérine; un chorion déjà parasité*



servira à élaborer le placenta maternel, des vaisseaux à parois dissociées par des spirochètes assureront la circulation sanguine. Quoi d'étonnant, si, dans ces conditions, le rejeton hérite de l'infection maternelle? Or, nous verrons qu'il n'en est rien, et c'est là, précisément, que réside l'intérêt des recherches expérimentales faisant l'objet du présent Mémoire.

#### IV. — Influence du cycle œstral folliculinique sur la tréponémose utéro-ovarienne des souris syphilitisées, castrées ou non castrées (1).

Les constatations résumées dans le *Chapitre* précédent, ont été recueillies sans que nous ayons tenu compte du cycle œstral de l'animal au moment de l'examen. Or, il nous a semblé intéressant d'étudier l'influence de l'*œstrus* sur le nombre et la répartition des tréponèmes dans l'ovaire et l'utérus. On sait que pendant toute l'évolution du cycle œstral, l'utérus est le siège d'un processus de prolifération épithéliale, de desquamation de la muqueuse utérine et d'infiltration leucocytaire, d'aspect nettement diapédétique et inflammatoire. Un tel processus exerce-t-il quelque action sur la parasitose tréponémique des organes génitaux des souris préalablement syphilitisées? Afin de résoudre ce problème, nous avons examiné ces organes après avoir administré à nos animaux de la folliculine (2), et cela : 1° à des souris non castrées; 2° à des sujets soumis à la castration unilatérale; et 3° à des animaux de la même espèce castrés bilatéralement. L'ablation préalable d'un ou des deux ovaires, ainsi que d'une portion des cornes utérines, nous a permis d'évaluer la teneur de l'utérus en tréponèmes avant l'*œstrus* provoqué par la folliculine, afin de la comparer à celle du même tissu chez les animaux sacrifiés à la phase œstrale. Le cycle œstral a été déterminé par la méthode des frottis d'Allen et Doisy (3), et contrôlé par l'examen histologique de l'utérus et des ovaires. Les deux méthodes ont,

(1) LEVADITI, SCHOEN, MANIN et VAISMAN. *C. R. Soc. de Biologie*, 1934, **116**, p. 376.

(2) Folliculine cristallisée préparée par M. Girard.

(3) ALLEN. *Amer. Journ. Anat.*, 1922, n° 30, cité d'après B. Zondek. *Die Hormone des Ovariums*, 1931, Julius Springer, Berlin.

d'ailleurs, fourni des résultats concordants. Ajoutons que la recherche du *Treponema pallidum* dans les ganglions lymphatiques a confirmé l'existence d'une infection syphilitique microbiologiquement apparente chez la plupart de nos souris syphilitisées (1 résultat négatif sur 30 sujets). Seul, le nombre des parasites a varié d'une série à l'autre.

RÉSULTATS. — 1° *Souris non castrées*. — Syphilis datant de cent quarante jours. 6 animaux ont servi à cet essai. Ils ont reçu 25 unités de folliculine et ont été sacrifiés en pleine phase œstrale. Présence de tréponèmes dans les ganglions lymphatiques périphériques. Seules, les souris 1 et 5 ont montré des spirochètes dans l'utérus; l'ovaire de la souris 1 était également contaminé. Pourcentage des résultats positifs : 33 p. 100.

2° *Souris ayant subi la castration unilatérale*. — 14 souris ont été utilisées. L'âge de la syphilis a été de soixante-sept jours (2 animaux), quatre-vingt-sept jours (6 animaux) et cent dix-neuf jours (6 animaux). La dose de folliculine administrée a été de 5, 15, 30 et 50 unités. Castrées unilatéralement d'abord, les souris ont été sacrifiées en pleine phase œstrale, cent vingt-deux, cent trente-six et cent trente-huit jours après l'inoculation du virus syphilitique. Le tableau II résume les résultats de nos observations :

TABLEAU II. — Castration unilatérale et folliculine.

NUMÉROS	souris	AVANT FOLLICULINE			APRÈS FOLLICULINE				DOSE FOLLICULINE	OESTRUS clinique	OESTRUS histologique
		Jours (syphilis)	Utérus (spirochètes)	Ovaire (spirochètes)	Jours (syphilis)	Utérus (spirochètes)	Ovaire (spirochètes)	Ganglions (spirochètes)			
1	213 B	62	0	0	126	0	0	+++	5	+	0
2	214 B	62	0	0	126	+	0	+++	15	+	+
3	475 B	87	+++	0	122	+++	0	++	50	+	+
4	476 B	87	0	0	122	0	0	+	50	+	+
5	477 B	87	0	0	122	+	0	++	50	+	+
6	478 B	87	0	0	122	0	0	+	50	+	+
7	480 B	87	+	0	122	0	0	++	50	+	++
8	481 B	87	+	0	122	0	0	0	50	+	+
9	323 B	119	0	0	138	++++	0	+++	15	0	+
10	326 B	119	0	0	138	+	0	+++	15	+	+
11	440 B	119	0	+	136	0	0	+++	30	0	0
12	441 B	119	0	0	136	0	0	+++	30	+	+
13	442 B	119	+	+	136	+	0	++++	30	+	0
14	443 B	119	0	0	136	0	0	+	30	+	0

Ce tableau montre qu'avant l'injection de la folliculine, sur les 14 souris en expérience, 5 révélaient la présence du *Treponema pallidum* soit dans l'utérus, soit dans l'ovaire, soit dans ces deux organes à la fois (pourcentage des résultats positifs : 35,7 p. 100). Après l'administration de l'hormone sexuelle femelle, le tréponème a été décelé dans l'utérus chez 6 animaux

(42,8 p. 100). A une exception près (souris n° 8), la contamination ganglionnaire a été constatée chez tous les animaux. La comparaison des données enregistrées avant et après l'action de la folliculine, montre que si chez certains sujets, les spirochètes ont apparu dans des utérus qui en étaient dépourvus à l'origine, chez d'autres, l'inverse est également survenue. En outre, chez quelques animaux, l'administration de la folliculine n'a pas provoqué l'apparition des parasites, absents avant le cycle œstral folliculinique.

TABLEAU III. — Castration bilatérale et folliculine.

NUMÉROS	SOURIS	AVANT FOLLICULINE			APRÈS FOLLICULINE			DOSE FOLLICULINE	ŒSTRUS clinique	ŒSTRUS histologique
		Jours (syphilis)	Utérus (spirochètes)	Ovaire (spirochètes)	Jours (syphilis)	Utérus (spirochètes)	Ganglions (spirochètes)			
1	215 B	62	0	0	125	0	+++	25	0	+
2	216 B	62	0	0	125	0	+	25	+	+
3	217 B	62	++	+	125	+	+++	25	+	+
4	218 B	62	+++	+	125	+++	+++	25	+	+
5	489 B	91	0	0	121	0	+	50	+	+
6	490 B	91	+	0	121	0	+	50	+	+
7	491 B	91	++	0	121	+	+	50	+	+
8	492 B	91	0	0	121	+	+++	50	+	+
9	493 B	91	+	0	121	+	++	50	+	+
10	494 B	91	+	0	121	0	++	50	+	+

3° *Souris castrées bilatéralement.* — 10 souris ont servi à cet essai. L'âge de la syphilis, au moment de la castration, a été de soixante-deux jours (4 animaux) et de quatre-vingt-onze jours (6 sujets). Avant l'injection de folliculine (25 à 50 unités), les tréponèmes ont été décelés dans l'ovaire et l'utérus chez 6 souris (60 p. 100). Après le traitement hormonal, et alors que les animaux étaient en pleine phase œstrale, la contamination de l'utérus a été révélée dans 5 cas (50 p. 100).

Voici, dans l'ensemble, l'incidence de la tréponémose utéro-ovarienne en fonction du cycle œstral provoquée par l'hormone sexuelle femelle.

RÉSULTATS POSITIFS  
p. 100

- a) Souris non castrées, injectées de folliculine. . . . . 33
- b) Souris castrées unilatéralement :
- Avant l'action de la folliculine . . . . . 35,7
- Après l'action de la folliculine . . . . . 42,8
- c) Souris castrées bilatéralement :
- Avant l'action de la folliculine . . . . . 60
- Après l'action de la folliculine . . . . . 50

Or, le pourcentage des résultats positifs enregistrés dans nos essais antérieurs (où il n'était pas question de traitement hormonal) était de 33 p. 100. Il en résulte que le processus dégénératif et diapédétique qui accompagne le cycle œstral chez la souris, ne semble influencer manifestement ni la teneur tréponémique utéro-ovarienne, ni la dispersion des parasites dans l'utérus ou l'ovaire. L'infection spirochétienne des organes reproducteurs femelles paraît donc évoluer indépendamment du cycle œstral. Les légers écarts constatés entre les pourcentages des résultats positifs, avant et après l'injection de la folliculine, peuvent s'expliquer par des variations individuelles, fréquentes dans des essais de ce genre. Il paraît, cependant, *que la castration bilatérale augmente l'incidence de la tréponémose utérine.*

*Nous concluons que le cycle œstral provoqué par l'administration de la folliculine à des souris blanches syphilitisées au préalable, n'influence pas manifestement l'infection tréponémique des organes reproducteurs (utérus et ovaire).*

## V. — La réceptivité des jeunes souriceaux à l'égard du virus syphilitique.

Avant d'affirmer si, oui ou non, l'infection spécifique des procréateurs se transmet héréditairement aux rejetons, une question préalable se pose : *les jeunes souriceaux, issus de parents indemnes, sont-ils susceptibles de contracter la tréponémose, au même titre que les souris normales adultes?* Les expériences que nous résumons ci-dessous répondent affirmativement.

EXPÉRIENCE 1. — *Couple 84.* Accouplement le 2 janvier 1934. Le 6 mars (soixante-troisième jour), première famille de 4 souriceaux. Le jour même de leur naissance, les rejetons sont inoculés, par voie sous-cutanée, avec une émulsion tréponémique (chancre scrotal du lapin, virus Truffi). Les 4 souriceaux sont sacrifiés le trente-huitième jour. On recueille, d'une part, les ganglions lymphatiques et la rate, d'autre part, le cerveau, que l'on inocule, par voie sous-scrotale, à des lapins neufs. Les ganglions se montrent virulents (apparition de syphilomes le cinquantième jour), alors que l'encéphale paraît dépourvu d'activité pathogène.

Par ailleurs, l'examen histologique des glandes lymphogènes des 4 souriceaux (nos 501, 502, 503 et 505 B), révèle la présence du *Treponema pallidum*.



EXPÉRIENCE 2. — *Couple 87*. Accouplement le 2 janvier 1934. Le 1<sup>er</sup> mars (cinquante-septième jour), première famille de six rejetons. Trois, parmi eux, sont inoculés avec une émulsion tréponémique, par voie sous-cutanée, alors qu'ils étaient âgés de cinq jours. Ils sont sacrifiés le trente-huitième jour. Le contrôle de la virulence est effectué comme dans l'expérience précédente. Les ganglions lymphatiques et la rate se montrent pathogènes (apparition de syphilomes chez les lapins-test le cinquantième jour), alors que l'encéphale paraît exempt de virus. L'examen microscopique des glandes lymphogènes périphériques des souriceaux 506, 507 et 508 B, révèle la présence de nombreux *Treponema pallidum*.

Ainsi, nul doute possible : *les souriceaux issus de procréateurs indemnes, sont susceptibles de contracter la tréponémose cliniquement inapparente, s'ils sont inoculés le jour même de leur naissance, ou lorsqu'ils sont âgés de cinq jours à peine.*

Il en résulte, qu'apparemment, nul obstacle ne doit s'opposer à la transmission de la syphilis des procréateurs contaminés aux rejetons. Au contraire, tout semble se concerter pour faciliter cette transmission : la présence de virus et de tréponèmes dans l'ovaire et l'utérus, la virulence du testicule, la réceptivité accusée des jeunes souriceaux. Mais est-ce réellement ainsi? Les données qui vont suivre répondront à cette question.

## VI. — Étude de la transmission héréditaire de l'infection spécifique.

Le problème sera envisagé suivant que le mâle, la femelle ou les deux conjoints ont été contaminés avant ou après l'accouplement.

### 1<sup>o</sup> MÂLE CONTAMINÉ, FEMELLE INDEMNÉ.

Quatre couples ont servi à cet essai :

a) *Couple 0*. — Mâle inoculé de syphilis le 3 avril 1934, femelle indemne. Accouplement le jour même de l'inoculation. Première famille, le 27 avril, soit vingt-quatre jours après l'inoculation de la syphilis. Cinq rejetons. Un de ces rejetons est sacrifié à l'âge de quatorze jours. Un mélange de foie, rate, poumon et rein est inoculé aux lapins 816 et 817. *Résultat négatif*, après cent quarante-deux jours d'observation. Le mâle est mort le 15 mai, soit dix-huit jours après la naissance des souriceaux. *Présence de tréponèmes dans ses ganglions lymphatiques périphériques.*

b) *Couple 174 B ♂ + 175 B ♀*. — Mâle inoculé de syphilis le 26 septembre 1933, femelle indemne. Accouplement le jour même de l'inoculation.

Première famille le quarante-sixième jour. Un seul rejeton est vivant le 9 décembre (310 B). Il est sacrifié à l'âge de vingt-huit jours. L'examen microscopique des organes ne révèle pas de *Treponema pallidum*. Les procréateurs sont sacrifiés cent quatorze jours après l'inoculation.

*Mâle* : présence de tréponèmes dans les ganglions lymphogènes périphériques, absence de parasites dans le cerveau et le testicule.

*Femelle* : absence de virus (inoculation aux lapins 584, 585 et 586) et de tréponèmes dans les ganglions lymphatiques, les ovaires et l'utérus.

*Couple 162 B ♂ + 163 B ♀*. Mâle inoculé le 26 décembre 1933, femelle normale. Accouplement le jour même de l'inoculation. Première famille le cinquante-huitième jour. Deux rejetons, dont un est sacrifié le sixième jour. Examen histologique du cerveau, du foie, de la rate, du rein et du poumon : absence de *Treponema pallidum*. La femelle 163 B meurt le soixante-quatrième jour. Elle est remplacée par une autre souris femelle normale. Seconde portée vingt-huit jours après le remplacement et quatre-vingt-douze jours après l'infection du mâle. Quatre rejetons, dont un succombe et les trois autres survivent. L'un de ces derniers est sacrifié à l'âge de vingt-quatre jours. Absence de spirochètes dans ses organes. La seconde femelle est sacrifiée le cinquante et unième jour. Absence de parasites sur coupes d'ovaire, d'utérus et de ganglions lymphatiques périphériques.

CONCLUSIONS. — 1° Des rejetons issus de père syphilitisé et de mère normale, nés alors que l'infection du procréateur datait de vingt-quatre, quarante-six, cinquante-huit et quatre-vingt-douze jours, se sont montrés exempts de spirochètes et de virus. La tréponémose du père n'a pas semblé se transmettre à la progéniture.

2° Des femelles normales, ayant vécu au contact de mâles contaminés et ayant été fécondées par eux, n'ont pas contracté la maladie.

## 2° MALE INDEMNÉ ET FEMELLE CONTAMINÉE.

Seize couples ont servi à cette série d'essais où, seule la mère a subi l'inoculation de virus syphilitique par voie sous-cutanée. Nous avons examiné la descendance, soit à l'état d'embryon ou de fœtus in utero, soit quelque temps après la naissance.

A. EMBRYONS. — a) *Couple AK*. Femelle inoculée le 16 mai 1933, mâle indemne. La femelle, déjà fécondée au moment de l'inoculation, est sacrifiée sept jours après. On prélève les embryons, le placenta et les ganglions lymphatiques périphériques, afin d'en préparer des émulsions qui sont inoculées à des lapins neufs. Le lapin 825, ayant reçu l'émulsion ganglionnaire, réagit par un syphilome scrotal riche en tréponèmes. Les lapins inoculés avec le placenta et les embryons restent indemnes.

CONCLUSIONS. — *Dans cette expérience, les embryons, de même que le placenta, prélevés chez une souris femelle contaminée sept jours auparavant, se sont montrés exempts de virus et de tréponèmes, alors que le système lymphatique de la mère était virulent [quoique exempts de spirochètes (4)].*

b) Couple 190 B ♂ + 191 B ♀. Mère infectée le 26 septembre 1933, mâle indemne. On sacrifie la souris femelle cinquante-sept jours après l'inoculation et l'accouplement. On la trouve pleine. L'examen microscopique permet de déceler le *Treponema pallidum* dans les ganglions périphériques, et non pas dans l'utérus, le placenta et les embryons.

CONCLUSIONS. — *Cet essai montre que le placenta et les embryons, prélevés chez une souris infectée depuis cinquante-sept jours, et dont les glandes lymphatiques périphériques renfermaient des parasites, étaient exempts de spirochètes.*

B. DESCENDANCE VIABLE. — a) Couple BC. Inoculation de la mère trois jours avant la naissance des rejetons. Mâle indemne. Un de ces rejetons (2) est sacrifié à l'âge de cent treize jours. Ses ganglions lymphatiques et sa rate, d'une part, son encéphale, d'autre part, servent à inoculer 6 lapins par voie sous-scrotale. *Résultat totalement négatif*, tant du point de vue virulence, qu'en ce qui concerne la présence de tréponèmes dans ces organes.

CONCLUSIONS. — *Un rejeton âgé de cent treize jours, issu d'une mère infectée depuis trois jours, s'est révélé totalement exempt de virus syphilitique.*

b) Couple B. Femelle inoculée de syphilis le 3 avril 1933, mâle indemne. La mère donne naissance à trois rejetons viables, sept jours après l'infection. Deux d'entre eux sont sacrifiés le dixième jour. Inoculation d'un mélange de foie, rate, poumon, rein et cœur aux lapins 568 U et 570 U. *Résultat négatif.*

CONCLUSIONS. — *Deux rejetons âgés de dix jours, issus d'une mère contaminée depuis sept jours, se sont montrés dépourvus de virus spécifique.*

c) Couple E. Femelle inoculée de syphilis le 3 avril 1933, mâle indemne. Première portée, neuf jours après l'inoculation. Deux rejetons, dont l'un est sacrifié à l'âge de huit jours, l'autre à l'âge de vingt-huit jours. Des mélanges de foie, rate, rein, poumon, cœur et ganglions lymphatiques sont inoculés, par voie sous-scrotale, aux lapins 572, 800, 801, 802 et 803 U. Gardés en observation pendant cent seize et cent quarante-huit jours, ils n'ont réagi d'aucune manière.

Deuxième portée, trente-sept jours après l'inoculation. Un rejeton est sacrifié le jour de sa naissance. Inoculés aux lapins 804, 805 et 806, ses organes se sont révélés exempts de virus. La mère est examinée soixante jours après l'inoculation du virus syphilitique ; présence de très nombreux tréponèmes dans ses ganglions lymphatiques périphériques.

CONCLUSIONS. — *Des rejetons nés neuf et trente-sept jours après l'infection de leur mère, étaient dépourvus de virus spécifique, malgré la présence de nombreux Treponema pallidum dans les glandes lymphoïdes de la procréatrice.*

d) Deux autres expériences, concernant des portées issues de souris femelles infectées depuis quarante-deux, soixante-deux et quatre-vingts

(1) On sait, qu'en général, les glandes lymphogènes peuvent être virulentes avant l'apparition de spirochètes décelables sur coupes.

(2) Nous verrons plus loin (p. 616) le sort du second rejeton 246.

jours, ont fourni des résultats identiques aux précédents. Le couple 178 B ♂ + 179 B ♀ mérite cependant une description plus détaillée.

*Couple 178 B ♂ + 179 B ♀.* — Femelle inoculée de syphilis le 26 septembre 1933. Mâle indemne. Première portée tardive, cent sept jours après l'inoculation de la mère. Les 2 rejetons sont sacrifiés à l'âge de trois jours. Leurs organes (foie, rate, rein, poumon, cœur et cerveau) sont inoculés aux lapins 581, 582 et 589 X. Maintenus en observation pendant quatre-vingt-dix jours, ces animaux ne réagissent d'aucune manière. Afin d'exclure la possibilité d'une infection spécifique inapparente, nous prélevons les ganglions poplités de ces lapins, que nous inoculons, par voie sous-scutanée, aux lapins 243, 244 et 245 A. *Résultat négatif* après quatre-vingt-dix jours d'observation. L'examen histologique des organes des 2 rejetons n'a révélé aucun tréponème.

**CONCLUSIONS.** — *Des souriceaux âgés de trois jours, issus d'une mère contaminée depuis cent sept jours, se sont révélés entièrement dépourvus de virus et de spirochètes. Leurs organes n'ont même pas conféré une syphilis inapparente aux lapins-test.*

Ainsi, *quelles qu'aient été les conditions expérimentales où nous nous sommes placés, jamais il ne nous a été donné de constater la transmission de l'infection syphilitique aux rejetons (embryons ou souriceaux viables) issus de mère contaminée et de père indemne. Alors que l'infection de la mère, datant de trois à cent sept jours, était vérifiée par la présence de tréponèmes dans le tissu lymphatique périphérique, ni les embryons et leur placenta, ni les descendants ayant vécu jusqu'à cent treize jours, n'ont paru atteints d'une infection spécifique décelable par la présence du Treponema pallidum, ou par l'inoculation au lapin.*

### 3° MALES ET FEMELLES CONTAMINÉS.

Cette troisième série d'essais comporte 19 couples constitués par des mâles et des femelles inoculés de syphilis. La plupart des conjoints n'ont reçu qu'une seule inoculation infectante, d'autres ont été contaminés à deux, trois et même quatre reprises. Enfin, dans deux expériences, l'inoculation du virus par voie sous-cutanée a été renforcée par une injection intra-veineuse d'émulsion tréponémique. Nous résumons ci-dessous les protocoles de nos essais.

#### A. — *Inoculation unique.*

*1<sup>er</sup> Couple V.* — Mâle et femelle (cette dernière déjà pleine) inoculés le 3 avril 1933. Première famille, neuf jours après l'infection. 2 rejetons sont



sacrifiés à l'âge de huit jours. Une émulsion de leurs organes (foie, rein, rate, poumon, cœur et testicules) est injectée, par voie sous-scrotale, aux lapins 665, 666, 667 et 668 U. Temps d'observation : cent quatorze jours. *Résultat négatif.* La femelle est morte le trente et unième jour. *Présence de tréponèmes dans ses ganglions lymphatiques périphériques.*

CONCLUSIONS. — Des rejetons âgés de huit jours, issus de procréateurs contaminés neuf jours avant leur naissance, se montrent dépourvus de virus spécifique, alors que la mère offre, le trente et unième jour, des ganglions parasités.

2<sup>o</sup> Couple U. — Mâle et femelle (cette dernière déjà pleine) inoculés le 3 avril 1933. Première famille dix jours après l'infection des procréateurs. Un des rejetons est sacrifié à l'âge de vingt-sept jours. Ses organes sont injectés, par voie sous-scrotale, aux lapins 810, 811 et 812 U. Temps d'observation : cent quarante-huit jours. *Résultat négatif.* Le mâle succombe le quarante-septième jour. *Présence de tréponèmes dans ses ganglions lymphatiques.*

CONCLUSIONS. — Un rejeton, issu de procréateurs infectés dix jours avant sa naissance et examiné à l'âge de vingt-sept jours, se montre dépourvu de virus spécifique, malgré la tréponémose lymphatique de l'ascendant mâle, constatée le quarante-septième jour.

3<sup>o</sup> Couple Z. — Mâle et femelle inoculés le 3 avril 1933. Première famille, douze jours après la contamination. 4 rejetons, dont trois succombent le onzième jour, et le quatrième est sacrifié à la même date. Les organes de ce dernier souriceau sont inoculés aux lapins 673 et 674 U; *résultat négatif.* L'examen histologique des organes des 4 rejetons ne révèle pas la présence du *Treponema pallidum*.

Deuxième famille, le trente-septième jour. Rejetons dévorés.

Troisième famille, le quatre-vingt-septième jour, de 7 souriceaux, dont 6 succombent et le 7<sup>e</sup> survit deux cent trois jours. Examen histologique négatif.

La mère est sacrifiée le deux cent quinzième jour. Les ovaires, l'utérus, les ganglions lymphatiques périphériques et l'encéphale sont inoculés aux lapins 253, 254, 256, 257, 258, 259 et 260 X. Tous les organes, excepté l'encéphale, déclenchent l'apparition de syphilomes riches en tréponèmes. Des parasites sont décelés microscopiquement dans les ganglions lymphatiques périphériques de la mère.

Le père est sacrifié le deux cent vingt-troisième jour. L'inoculation des testicules et du cerveau aux lapins 270, 272 et 273 X fournit un résultat nettement positif. Absence de spirochètes sur coupes.

CONCLUSIONS. — Dans cette expérience, une certaine mortalité est apparue à la troisième portée. Toutefois, un rejeton, né onze jours après l'infection des procréateurs, s'est révélé exempt de virus, et plusieurs autres, appartenant à la troisième portée (le quatre-vingt-septième jour), se sont montrés dépourvus de spirochètes décelables sur coupes. Or, les deux parents étaient contaminés, puisque l'ovaire, l'utérus et les ganglions lymphatiques, chez la mère, les testicules et le néoraxe chez le père, contenaient du virus inoculable au lapin.

4<sup>o</sup> Couple Y. — Mâle et femelle inoculés le 3 avril 1933. Première famille treize jours après l'inoculation. 2 rejetons sont dévorés, deux autres sont sacrifiés le quatrième jour. Les organes de ces derniers servent à inoculer les lapins 670, 671 et 672 U. *Résultat négatif* le soixante-quinzième et le cent quatorzième jour. La femelle est morte le quarante-cinquième jour. *Présence*

de tréponèmes dans ses ganglions lymphatiques périphériques. Il en est de même des ganglions du mâle, mort le soixantième jour.

CONCLUSIONS. — Des rejets issus de procréateurs syphilitisés, treize jours après infection, se sont montrés exempts de virus, alors que les parents eux-mêmes étaient contaminés (présence de tréponèmes dans leurs ganglions lymphatiques).

5° Couple AD. — Mâle et femelle inoculés le 3 avril 1933. Première famille le vingt-troisième jour. 6 rejets, dont 1 seul survit; ce dernier est sacrifié le treizième jour. L'inoculation de ses organes aux lapins 813, 814 et 815 U fournit un résultat négatif, le cent quarante-huitième jour. La femelle et le mâle, morts, respectivement, le trentième et le cent quatorzième jours, révèlent la présence de tréponèmes dans les ganglions lymphatiques périphériques.

CONCLUSIONS. — Mâle et femelle sûrement contaminés (tréponémose lymphatique) ont conçu des rejets dépourvus de virus.

6° Couple AG. — Mâle et femelle infectés le 16 mars 1933. Première portée le trente-neuvième jour. 4 rejets dont 1 seul survit. Il est sacrifié le quatre-vingt-seizième jour. Un mélange de ganglions lymphatiques et de rate est inoculé aux lapins 113, 114 et 115 X; l'encéphale est administré aux lapins 110, 111 et 112 X. Résultat négatif après quatre-vingt-dix jours d'observation.

7° Couple AS. — Mâle et femelle infectés le 26 mars 1933. Première portée le trente-septième jour. 3 rejets, dont 2 survivent, les n°s 244 B (1) et 295 B. Ce dernier est sacrifié à l'âge de deux cent cinquante-neuf jours. L'examen microscopique ne révèle pas la moindre trace de tréponèmes dans ses organes.

Deuxième portée, le quatre-vingt-neuvième jour. 4 rejets, dont 2 survivent. L'un d'eux est sacrifié à l'âge de cinquante jours. Les ganglions lymphatiques et la rate sont inoculés aux lapins 120 et 121 X; l'encéphale est administré aux lapins 116 et 117 X. Résultat négatif après quatre-vingt-dix jours d'observation. L'examen histologique ne révèle pas de tréponèmes, ni chez ce rejeton, ni chez ses congénères.

La mère est sacrifiée le cent quatre-vingt-deuxième jour. L'encéphale, l'ovaire, l'utérus et les ganglions lymphatiques sont inoculés aux lapins 241, 242, 245, 246, 247, 248, 243 et 244 X. Chacun de ces organes déclenche l'apparition d'un syphilome typique. En outre, à l'examen microscopique, on constate la présence de tréponèmes dans l'ovaire, au contact de la couche germinative des follicules de Graaf athrésisés, dans l'utérus et dans les glandes lymphoïdes.

Le père est mort cent quatre-vingt-deux jours après la contamination. Absence de tréponèmes dans les ganglions lymphatiques, mais altérations testiculaires (atrophie, nécrose partielle périphérique, sclérose, spermatogénèse atypique).

CONCLUSIONS. — Dans cette expérience, une femelle, dont l'ovaire, l'utérus et les ganglions lymphatiques périphériques se montrent parasités et virulents quatre-vingt-treize jours après une dernière portée, a mis bas, à deux reprises (le trente-septième et le quatre-vingt-neuvième jours), des rejets totalement dépourvus de virus et de tréponèmes.

8°, 9° et 10°. — Afin d'abréger notre exposé, nous résumons les détails de ces trois dernières expériences dans le Tableau IV.

(1) Nous reviendrons ultérieurement sur le sort du rejeton 244 B.

TABLEAU IV.

COUPLE	PORTÉE	DATE de naissance	AGE des rejetons en jours	RÉSULTATS	
				Inoculation	Tréponèmes
X . . . . .	Première.	75 <sup>e</sup> jour.	99	Négatif.	Négatif.
157 B. . . . .	Première.	102 <sup>e</sup> jour.	72	Négatif.	
203 B. . . . .	Première.	110 <sup>e</sup> jour.	a) 15	Négatif.	
204 B. . . . .			b) 15		

### B. — Inoculations répétées.

1<sup>o</sup> Couple 95. — Mâle et femelle inoculés par voie sous-cutanée le 14 novembre 1933. Seconde inoculation le 25 mars 1934, troisième, le 17 avril, et quatrième, le 29 mai. *Première portée*, cent trente-deux jours après la première infection et cinq jours après la dernière. 6 rejetons, dont 2 succombent et 4 autres sont sacrifiés à l'âge de soixante jours. Un mélange des organes de ces souriceaux est inoculé aux lapins 528, 529 et 530 A. *Résultat négatif* (passages des ganglions aux lapins 864, 862 et 863 A; *résultat négatif*). L'examen histologique de ces organes ne révèle pas la présence de tréponèmes. La mère est sacrifiée le deux cent vingt-cinquième jour. *Présence de Treponema pallidum dans l'utérus et les ganglions.*

CONCLUSIONS. — *Les rejetons issus de procréateurs contaminés à plusieurs reprises, et nés cent trente-deux jours après le début de l'infection, se sont révélés exempts de virus et de tréponèmes.*

2<sup>o</sup> Couple 102. — Mâle et femelle inoculés par voie sous-cutanée : une première fois, le 14 novembre 1933, une seconde fois, le 21 mars 1934, et une troisième et quatrième fois, le 17 avril et le 23 mai. *Première portée*, le cent trentième jour : rejetons dévorés. *Deuxième portée*, le cent quarante-huitième jour : 3 souriceaux sacrifiés le quarante-quatrième jour. Leurs organes servent à inoculer les lapins 533, 534 et 535 A. *Résultat négatif* (passage des ganglions aux lapins 864, 865 et 866; *résultat négatif*). L'examen histologique de ces organes ne révèle pas la présence du *Treponema pallidum*.

CONCLUSIONS. — *Identiques aux précédentes.*

3<sup>o</sup> Couple 103. — Même dispositif expérimental. Mêmes inoculations. *Première portée* le cent cinquante-cinquième jour, soit douze jours après la troisième contamination. 4 rejetons, sacrifiés le vingtième jour. Inoculation de leurs organes aux lapins 518, 519 et 521 A. *Résultat négatif* (passage des ganglions aux lapins 858, 859 et 860 A; *résultat négatif*). L'examen histologique de ces organes ne révèle pas la présence de spirochètes. La mère est sacrifiée le deux cent vingt-cinquième jour. *Tréponémose des ganglions lymphatiques.*

CONCLUSIONS. — *Des rejetons issus de procréateurs contaminés à plusieurs reprises et nés cent cinquante-cinq jours après le début de l'infection, se sont montrés exempts de virus et de tréponèmes.*

4<sup>o</sup> Couple 47. — Mâle et femelle inoculés, pour la première fois (voie sous-

cutanée), le 2 janvier 1934. *Seconde inoculation* à la mère gravide, d'une émulsion de tréponèmes administrée par voie intraveineuse, le 12 mars. *Pre-mière portée* quatre jours après l'injection dans les veines. 7 rejetons, dont 4 succombent et 3 sont sacrifiés à l'âge de vingt-sept jours. Leurs encéphales sont inoculés aux lapins 215, 216, 217 et 218 A, un mélange de leurs organes est administré aux lapins 219, 220, 221 et 222 A. *Résultat négatif*, après quatre-vingt-dix jours d'observation. L'examen des coupes de ces organes ne révèle pas la présence de tréponèmes. Le passage des ganglions lymphatiques des animaux-test, effectué aux lapins 852 à 856 A, a fourni un *résultat négatif*.

La mère est sacrifiée le quatre-vingt-dixième jour. *Présence de spirochètes dans les ganglions lymphatiques périphériques et l'utérus; stérilité de l'ovaire.*

CONCLUSIONS : *Identiques aux précédentes.*

5° Couple 55. — Même dispositif expérimental, mêmes inoculations. *Pre-mière portée*, quatre jours après l'injection intraveineuse. 3 rejetons, dont 2 sont sacrifiés le vingt-septième jour. Les encéphales sont inoculés aux lapins 215, 216, 217 et 218 A, le mélange d'organes aux lapins 219, 220, 221 et 222 A (mêmes animaux utilisés pour l'expérience précédente). *Résultat négatif*, après quatre-vingt-dix jours d'observation. L'examen histologique des organes ne révèle pas la présence du *Treponema pallidum*.

La mère est sacrifiée le quatre-vingt-dixième jour. *Tréponèmes dans les ganglions lymphatiques périphériques*, absence de parasites dans les ovaires et l'utérus.

CONCLUSIONS : *Identiques aux précédentes.*

Les protocoles exposés dans ce chapitre montrent que les conditions expérimentales réalisées ont été aussi nombreuses que variées. Nous nous sommes efforcés de nous rapprocher le plus possible de ce que l'on observe en pathologie humaine, de manier le virus syphilitique afin qu'il puisse atteindre la descendance pendant la fécondation (vraisemblablement aussi au cours de la germination) et à toutes les phases de la vie embryonnaire et fœtale des rejetons. Ceux-ci ont été examinés, *in utero*, dès leur naissance, et plus ou moins longtemps après. Tous les moyens d'investigation à notre disposition ont été utilisés pour dépister l'infection spécifique de l'utérus, du placenta, des testicules, des embryons, des fœtus et des descendants viables.

Or, quel qu'ait été le mode expérimental utilisé, les résultats ont été concordants : *la descendance de couples dont seuls le mâle ou la femelle était contaminé, ou encore de parents tous deux en proie à une syphilis cliniquement inapparente, s'est révélée exempte de virus spécifique et de tréponèmes.* Pour autant que des investigations entreprises avec une seule souche de germes permettent de conclure, nos essais prouvent que LA



TRANSMISSION HÉRÉDITAIRE DE LA SYPHILIS CHEZ LA SOURIS EST PRATI-  
QUEMENT INEXISTANTE.

*Même lorsqu'on a soin d'introduire le virus dans la circulation générale pendant la gestation, et de sacrifier la mère vingt-quatre heures après l'inoculation, les résultats ne sont pas différents de ceux exposés ci-dessus. Le protocole suivant en fournit la preuve.*

EXPÉRIENCE 1. — *Souris 251 A pleine.* Inoculation d'une émulsion tréponémique par voie intravasculaire. L'animal est sacrifié vingt-quatre heures après l'injection. Voici les résultats des inoculations des ganglions lymphatiques périphériques, du sang, du placenta et des fœtus :

*Ganglions lymphatiques de la mère* : Lapins 344 et 375 U : *résultat positif* (cinquante-huitième jour).

*Sang de la mère* : Lapins 377 et 378 U : *résultat négatif* (trois cent onze jours d'observation).

*Placenta* : Lapins 387, 388, 389 et 390 U : *résultat négatif* (trois cent onze jours d'observation).

*Fœtus* : Lapins 391, 393, 381 U : *résultat négatif* (trois cent onze jours d'observation).

Par ailleurs, l'examen microscopique révèle la présence, chez la mère, de rares tréponèmes dans les glandes lymphogènes et la couche musculaire de l'utérus.

Cet essai montre que le virus syphilitique, administré par voie intraveineuse à une souris pleine, peut être retrouvé vingt-quatre heures après dans les ganglions lymphatiques et l'utérus de la mère, alors qu'il n'a réussi à envahir ni le placenta, ni les fœtus.

S'il en est ainsi, si, comme nous venons de le constater, l'infection décelable par l'inoculation à des animaux-test (en l'occurrence le lapin), et par la présence du *Treponema pallidum*, n'est pas, chez la souris, transmissible héréditairement, on pourrait, tout au moins, s'attendre à ce que la tréponémose des procréateurs se manifestât dans la descendance, soit par la mortinatalité, soit par une mise-bas précoce (avortement), soit, enfin, par la stérilité. Examinons ce problème.

## VII. — Influence de la syphilis des procréateurs sur la fécondation

L'incidence des naissances et de la mortinatalité.

Au début de nos recherches, alors que nous ne connaissions pas suffisamment les conditions où s'effectue la reproduction des souris blanches dans les élevages de laboratoire, nous avions l'impression que la syphilis des procréateurs exerçait

une certaine influence sur cette reproduction. Nous relevions soit une mortinatalité fréquente, soit un arrêt de la fécondation, après une ou deux portées. Dans l'impossibilité où nous nous trouvions de formuler, à ce sujet, des conclusions valables, nous avons décidé de procéder comme suit : un certain nombre de souris mâles et femelles, syphilitisées au préalable, étaient mises en observation, dans les mêmes conditions d'alimentation, de température et d'éclairage où se trouvaient, pendant la même période de temps, le même nombre de couples indemnes, de même âge et de même provenance. Nous relevions exactement la date et le nombre de portées, ainsi que le sort des rejetons.

EXPÉRIENCE. — Début de l'expérience, le 2 janvier 1934; résultats enregistrés jusqu'au 26 mars. 29 couples syphilitiques, inoculés le jour même de l'accouplement (voie sous-cutanée). Même nombre de couples normaux.

Il résulte des données enregistrées que :

1° La stérilité s'est manifestée 7 fois chez les 29 couples syphilitiques (24 p. 100) et 8 fois chez les couples normaux (27,5 p. 100);

2° Les couples contaminés ont mis bas 75 rejetons, alors que les couples indemnes ont procréé 74 souriceaux;

3° En ce qui concerne la *date* des fécondations, dans les deux séries, voici des chiffres qui la précisent :

Souris syphilitiques.		Souris normales.	
NOMBRE des naissances	DATE en jours	NOMBRE des naissances	DATE en jours
2 . . . . .	Le 22°.	1 . . . . .	Le 24°.
1 . . . . .	Le 23°.	3 . . . . .	Le 27°.
1 . . . . .	Le 24°.	1 . . . . .	Le 29°.
1 . . . . .	Le 26°.	2 . . . . .	Le 31°.
2 . . . . .	Le 28°.	1 . . . . .	Le 35°.
1 . . . . .	Le 33°.	1 . . . . .	Le 36°.
1 . . . . .	Le 34°.	1 . . . . .	Le 37°.
1 . . . . .	Le 39°.	1 . . . . .	Le 38°.
1 . . . . .	Le 41°.	1 . . . . .	Le 39°.
2 . . . . .	Le 44°.	1 . . . . .	Le 40°.
1 . . . . .	Le 55°.	3 . . . . .	Le 55°.
1 . . . . .	Le 57°.	1 . . . . .	Le 57°.
1 . . . . .	Le 63°.	1 . . . . .	Le 63°.
1 . . . . .	Le 64°.	1 . . . . .	Le 76°.
2 . . . . .	Le 73°.	1 . . . . .	Le 77°.
1 . . . . .	Le 82°.	1 . . . . .	Le 83°.
1 . . . . .	Le 83°.		

L'incidence des naissances a donc été, à peu de chose près, la même dans les deux séries;

4° La fréquence des deuxièmes portées, infiniment inférieure à celle des premières portées, a été presque identique dans les deux séries de couples (3 pour la série syphilitique, avec 11 rejetons, et 2 pour la série témoin, avec 10 souriceaux).

Il y a donc lieu de conclure que *l'infection spécifique des procréateurs ne modifie en rien l'incidence des fécondations, la date des naissances, la fréquence des deuxièmes portées, ainsi que le nombre des rejetons.*

Quant à la *viabilité* de ces rejetons, aucune impression bien nette ne se dégage de l'ensemble de nos observations. Tout au plus avons-nous enregistré une certaine mortinatalité chez les descendants des couples syphilités, mais tant de facteurs peuvent influencer la viabilité (entre autres la tendance de certaines mères à dévorer leurs petits), qu'il nous est impossible d'affirmer quoi que ce soit de précis à ce sujet.

### VIII. — Le comportement des rejetons issus de procréateurs syphilités, à l'égard d'inoculations effectuées quelque temps après leur naissance.

Si les procréateurs syphilités ne conèrent pas l'infection spécifique à leur descendance, leur transmettent-ils, du moins, un état réfractaire appréciable ? Nous avons résolu ce problème en procédant de la manière suivante :

On prélève les ganglions lymphatiques inguinaux à des souriceaux issus de parents contaminés depuis un temps variable, puis on leur inocule, par voie sous-cutanée, des fragments de syphilomes de lapins. Sacrifiés plus tard, ils sont examinés du point de vue de la présence du *Treponema pallidum* dans le système lymphoïde, et, parfois, dans l'ovaire et l'utérus. La parasitose de ces tissus est un indice certain de l'état de réceptivité de l'animal. Voici les protocoles de nos essais :

EXPÉRIENCE I. — *Infection de la mère datant de trois jours. Couple BC* (voy. p. 608). Un des souriceaux, né trois jours après l'inoculation de la mère (n° 246 B) est opéré à l'âge de deux cent cinquante-sept jours. Quinze jours après, on lui inocule le virus syphilitique par voie sous-cutanée. Il est sacrifié le vingt-huitième jour. *Examen histologique* : absence de tréponèmes

dans les ganglions avant l'inoculation, *présence de nombreux spirochètes dans le système lymphatique périphérique après* (aparasitose de l'ovaire et de l'utérus).

EXPÉRIENCE 2. — *Infection de la mère datant de quatre-vingts jours. Couple 156 B.* Inoculation de la femelle le 3 août 1933. Quatre-vingts jours après, mise bas de deux rejetons. L'un d'eux (n° 252 B) est sacrifié à l'âge de cent quatre-vingts jours ; absence de tréponèmes dans les ganglions et l'utérus. L'autre rejeton (n° 249 B) est opéré à l'âge de cent trente-sept jours, puis inoculé de syphilis quinze jours après. *L'examen histologique, pratiqué vingt jours après l'infection, permet de déceler le Treponema pallidum dans les ganglions lymphatiques (auparavant stériles) et le greffon sous-cutané (aparasitose du testicule).*

EXPÉRIENCE 3. — *Syphilis des deux procréateurs, datant de trente-cinq jours. Couple BH. Première portée, trente-cinq jours après l'inoculation virulente.* — 6 rejetons, dont 2 survivent. L'un d'eux (n° 248 B) est examiné histologiquement à l'âge de cent trente jours : absence de parasites. Le second souriceau (n° 247 B), est opéré à l'âge de deux cent vingt-cinq jours et infecté quinze jours après. *L'examen histologique, pratiqué vingt-huit jours après la greffe, révèle la présence de spirochètes dans les ganglions lymphatiques (auparavant stériles) et dans le greffon (envahissement des tissus périphériques par les parasites, début de syphilome cutané) [aparasitose du testicule].*

EXPÉRIENCE 4. — *Syphilis des deux procréateurs, datant de trente-sept jours. Couple AS (voy. p. 611). Première portée le trente-septième jour.* — 3 rejetons, dont 2 survivent. L'un d'eux (245 B) se montre, à l'âge de deux cent soixante-six jours, microscopiquement stérile. Le second souriceau (n° 244 B), est opéré à l'âge de deux cent vingt-trois jours et inoculé de syphilis quinze jours après. Examiné vingt-huit jours après l'infection, il révèle la présence du *Treponema pallidum* dans les ganglions lymphatiques périphériques, préalablement stériles.

EXPÉRIENCE 5. — *Syphilis des deux procréateurs datant de soixante-quinze jours. Couple X (voy. p. 612). Première portée le soixante-quinzième jour.* — 5 rejetons, dont 2 survivent. Le premier est sacrifié à l'âge de quatre-vingt-dix-neuf jours. L'inoculation de ses organes à des lapins en démontre la stérilité. Le second souriceau (n° 241 B) est opéré à l'âge de cent quatre-vingt-cinq jours, puis inoculé de syphilis quinze jours après. *L'examen histologique, pratiqué le vingt-huitième jour, permet de constater des spirochètes dans les ganglions lymphatiques, auparavant stériles* (aparasitose de l'ovaire et de l'utérus).

EXPÉRIENCE 6. — *Syphilis des deux procréateurs, datant de quatre-vingts jours. Couple W.* — Première portée le quatre-vingtième jour. 4 rejetons, dont 2 survivent. L'un d'eux (n° 242 B) est opéré à l'âge de cent quatre-vingts jours, puis inoculé de syphilis quinze jours après. Examiné vingt-huit jours après l'infection, il révèle la *présence de parasites dans les ganglions lymphatiques, précédemment stériles.*

Ces expériences sont toutes concordantes : elles prouvent que *des rejetons issus soit de mère infectée et de père indemne,*



*soit des deux parents contaminés (l'infection datant de trois à soixante-quinze jours), sont susceptibles de contracter une tréponémose vérifiable microscopiquement, quel que soit leur âge (de cent trente-sept à deux cent cinquante-sept jours) au moment de l'inoculation d'épreuve (1).*

IX. — Eventualité d'une transmission de la syphilis  
par ingestion de lait  
(après contamination expérimentale des glandes mammaires).

Ainsi, la syphilis des procréateurs ne se manifeste ni par des modifications des facultés procréatrices, ni par l'hérédité d'un état réfractaire. *Peut-elle, du moins, se transmettre par ingestion de lait, après injection de virus syphilitique dans le parenchyme des glandes mammaires?* Quelques essais, faits dans cette direction, sont résumés ci-après :

EXPÉRIENCE. — *L'inoculation d'une émulsion tréponémique dans les glandes mammaires, est-elle suivie d'une généralisation de l'infection?*

Couple 67. — *Première famille, trente-huit jours après l'accouplement. Injection d'une émulsion tréponémique dans les glandes mammaires, le cinquième jour. La mère est sacrifiée soixante-trois jours après l'infection. Présence de spirochètes dans les ganglions lymphatiques. Absence d'altérations et de parasites dans les glandes mammaires en involution.*

Couple 65. — *Mêmes résultats.*

Ces expériences prouvent que *lorsqu'on inocue le virus spécifique dans les glandes mammaires en lactation, le tréponème se généralise et pullule dans les ganglions lymphatiques périphériques de la souris inoculée. Y a-t-il, dans ces conditions, transmission de l'infection aux rejetons par l'intermédiaire du lait?*

EXPÉRIENCE a). — *Femelle 346 B. Portée de deux rejetons 509 et 510 B. Inoculation d'une émulsion tréponémique dans les glandes mammaires, douze jours après la mise-bas. La lactation s'effectue normalement, de même que l'alimentation des souriceaux. Ceux-ci sont sacrifiés à l'âge de soixante-seize jours. Leurs ganglions lymphatiques et rate sont inoculés aux lapins 235, 236, 237, 238 et 239 A. Résultat négatif. Absence de spirochètes. La mère est*

(1) Il ne saurait être question ici de *réinfection* (Cf. les recherches de Kolle, expériences sur les lapins syphilités), attendu que jamais de tels rejetons ne se sont montrés parasités avant le *test* de l'état réfractaire.

sacrifiée le soixante-seizième jour. Présence du *Treponema pallidum* dans les ganglions lymphatiques périphériques, intégrité de la glande mammaire (contamination par le *Spirochæta muris*).

EXPÉRIENCES *b et c*. — Inoculation de virus syphilitique dans les glandes mammaires des souris 347 B et 349 B, six jours après la mise-bas. L'inoculation aux lapins des ganglions et de la rate des rejets, âgés de soixante-dix jours, fournit un résultat négatif. Mères contaminées (présence du *Treponema pallidum* dans leurs glandes lymphogènes).

CONCLUSION. — L'ensemble de ces essais prouve que *si l'inoculation du virus spécifique dans les glandes mammaires en lactation, est suivie d'un envahissement du système lymphatique par le tréponème, par contre, il n'y a pas de transmission de l'infection aux rejets que la mère allaite.*

## X. — Contamination de l'un des procréateurs par le conjoint.

Examinons, pour terminer, le dernier problème posé : Le mâle contaminé, confère-t-il l'infection à la femelle normale qu'il a fécondée à une ou plusieurs reprises? Inversement, une femelle infectée transmet-elle la tréponémose au mâle qui l'a rendue pleine? Sept expériences ont été réalisées dans les meilleures conditions; nous en relaterons deux, les autres étant identiques à celles-ci.

EXPÉRIENCE I. — *Contagion possible de la femelle. Couple 174 ♂ et 175 ♀ B.* — Mâle contaminé par voie sous-cutanée. Femelle indemne. Première portée le quarante-sixième jour. 5 rejets, dont un survit vingt-huit jours. Sacrifié à cette date, il se montre exempt de tréponèmes. Les deux conjoints sont tués le cent quatorzième jour. Les ganglions lymphatiques du mâle renferment de nombreux *Treponema pallidum*; son encéphale et ses testicules en sont exempts. Les glandes lymphogènes de la femelle, de même que son utérus et ses ovaires (dépourvus de spirochètes), sont inoculés aux lapins 584, 585 et 586 X. *Résultat négatif* après quatre-vingt-dix jours d'observation.

EXPÉRIENCE II. — *Contagion possible du mâle. Couple 180 B ♂ et 181 B ♀.* — Seule la femelle est inoculée de syphilis au moment de l'accouplement. Première portée le soixante-quatorzième jour. Les deux conjoints sont sacrifiés le cent quatorzième jour. Présence de tréponèmes dans les ganglions lymphatiques de la femelle. Les testicules et les glandes lymphogènes du mâle sont inoculés aux lapins 587, 588 et 589 X. *Résultat négatif* (aparasitose de ces organes).

Ainsi, nul doute possible : *jamais nous n'avons constaté la contamination d'un des conjoints par l'autre, malgré la fécondité des couples examinés.*

## XI. — Interprétation des faits observés.

Contrairement à ce que l'on constate fréquemment chez l'homme, la transmission héréditaire de la syphilis ne s'effectue pas chez la souris blanche. Malgré la présence fréquente du *Treponema pallidum* dans l'ovaire et l'utérus (au contact même de l'endomètre) et la virulence des testicules, en dépit des inoculations uniques ou répétées effectuées chez les procréateurs, et quoique nous ayons réalisé des conditions aussi rapprochées que possible de celles qui président à la transmission de l'hérédo-syphilis humaine, les résultats n'ont pas varié : ils ont été constamment négatifs. Les générateurs syphilités ne confèrent pas un état réfractaire appréciable à leur descendance, leur fécondité ne diffère guère de celle des couples témoins, la mortinatalité n'est pas plus élevée, et ils ne se contaminent pas l'un l'autre, malgré l'accouplement et la fécondation.

Dès lors, il importe de rechercher les raisons de ces différences dans le comportement des humains d'une part, des rongeurs d'autre part. Nous avouons qu'actuellement, il nous est impossible de résoudre le problème d'une manière entièrement satisfaisante. Nous nous contenterons donc de suggérer des interprétations biologiques et anatomiques plausibles, quitte à ce qu'elles soient révisées par la suite.

Les caractères cliniquement inapparents de la syphilis expérimentale de la souris n'entrent pas en ligne de compte. En effet, les résultats sont, à peu de chose près, les mêmes chez le lapin, et, cependant, cette espèce animale réagit par des symptômes typiques et par une spécificité vérifiable microbiologiquement et expérimentalement.

On pourrait prétendre que si la syphilis de la souris ne se transmet pas héréditairement, c'est que le virus ne circule pas longtemps et en quantité suffisante dans le sang, ce qui diminuerait les chances d'une contamination diaplascentaire

hématogène. En fait, les expériences de Constantinesco (1), réalisées dans notre laboratoire, ont démontré la stérilité du sang chez les souris atteintes de spécificité occulte. L'argument est valable, mais savons-nous exactement à quel moment le liquide hématique sert de vecteur au germe pour assurer sa dispersion dans l'organisme, et quel est le nombre d'unités virulentes que ce liquide peut charrier?

En outre, on pourrait invoquer le fait que la syphilis occulte de la souris est conférée par des souches de virus non adaptées à cette espèce animale. D'origine humaine, la souche Truffi a été entretenue sur le lapin pendant plus de vingt-cinq ans; or, tout en ayant conservé sa virulence pour l'homme, elle est totalement étrangère aux muridés. D'ailleurs, il n'est pas aisé de réaliser l'infection spécifique des souris par des passages réguliers chez cette espèce animale, ainsi qu'il advient lorsqu'on expérimente sur le lapin [Cf. les expériences de Constantinesco (2)].

\*  
\* \*

Quoi qu'il en soit, si l'on désire préciser, ou tout au moins entrevoir les causes efficientes de la non-transmission du virus syphilitique par voie héréditaire chez les rongeurs, on est contraint d'interroger la clinique humaine. Certes, il y a, du point de vue de la fécondation, de l'embryogénèse, de l'évolution du fœtus, de la constitution du placenta, etc., des disséminances, souvent considérables, entre l'espèce humaine et ces rongeurs. Toutefois, certaines données acquises par l'étude pathogénique de l'hérédo-syphilis de l'homme, pourraient nous fournir des éclaircissements utiles.

Consultons, à ce sujet, le travail d'ensemble publié récemment par Péhu et Pizzera (3), et par Pizzera (4), sur la « *Contamination syphilitique de l'embryon et du fœtus* (1932) », monographie parfaitement documentée, où chaque problème est examiné avec un sens critique hors ligne. Parcourons égale-

(1) LEVADITI et CONSTANTINESCO. *C. R. Soc. de Biol.*, 61, 1932, p. 967.

(2) LEVADITI et CONSTANTINESCO. *C. R. Soc. de Biol.*, 62, 1933, p. 46.

(3) PÉHU et PIZZERA. *Revue française de Pédiatrie*, 9, 1933, p. 401.

(4) PIZZERA, Sur la contamination syphilitique de l'embryon et du fœtus. *Thèse de Lyon*, 1932.



ment les « *Prolegomena* » et l'article, si riche en suggestions, rédigé, en 1928, par E. Hoffmann (1). Qu'y trouvons-nous ?

L'hérédo-syphilis chez l'homme y est étudiée à l'aide des statistiques les plus récentes, celles de Charpentier (2), d'Orel (3) et de Lévy-Solal (4), entre autres. Il apparaît nettement que la spécificité se transmet très souvent aux rejetons, *mais non pas dans tous les cas*. Les chiffres publiés par Orel (chiffres que nous reproduisons d'après Pizzera), sont, à notre avis, les plus démonstratifs : sur 100 grossesses de mères syphilitiques non traitées (ou insuffisamment traitées), il y a, en moyenne, 60 naissances à terme d'enfants viables, mais, parmi ceux-ci, 30 seulement atteignent la troisième année (au lieu de 60 parmi les rejetons issus de parents non syphilitiques). *Il n'en est pas moins vrai que la dispersion du virus spécifique, à travers les villosités placentaires, n'est pas constante*. Ce caractère facultatif de l'hérédo-syphilis humaine, mis en lumière par Finger, est confirmé par Rosinski (5), Matzenauer (6) et Pizzera. Voici comment cet auteur s'exprime à ce sujet : « Nous connaissons ces cas signalés dans la littérature, tels que celui de Boissard (7), en 1903, d'une femme atteinte de syphilis, qui présente une ou plusieurs gestations terminées par des avortements, des naissances à terme, ou avant terme d'enfants mort-nés et macérés, et une nouvelle gestation qui va se terminer par l'accouchement à terme d'un enfant sain, apparemment du moins. Enfin, à la suite de cette grossesse normale, cette même femme, de nouveau enceinte, contaminera encore son enfant. Ces gestations normales et pathologiques peuvent alterner, ou se succéder, suivant un rythme des plus variables. » Péhu et Pizzera ne pensent pas que le traitement intervienne dans cette alternance de l'hérédo-syphilis humaine. D'autres facteurs doivent être incriminés, mais, quels qu'ils soient, tantôt ils agissent pour favoriser le passage du virus à travers le filtre

(1) E. HOFFMANN. *Dermatol. Zeitschr.*, 54, 1928, p. 399; *idem*, 57, 1929, p. 145.

(2) CHARPENTIER, cité d'après Pizzera (*loc. cit.*).

(3) OREL. *Zeitschr. f. Kinderheilk.*, 40, 1932, p. 414.

(4) LÉVY-SOLAL, cité d'après Pizzera (*loc. cit.*).

(5) ROSINSKI. *Die Syphilis in der Schwangerschaft*, Stuttgart, 1902.

(6) MATZENAUER. *Erganz. zum Arch. f. Dermatol. u. Syphilis*, 1903; *Wien. klin. Woch.*, 46, n° 7, 1903, p. 175.

(7) BOISSARD, cité d'après Pizzera (*loc. cit.*).

placentaire, tantôt leur intervention s'exerce dans un sens diamétralement opposé.

L'inconstance de l'hérédo-syphilis humaine est nettement influencée par l'âge de l'infection de la mère. Fournier (1) l'a bien démontré, lorsqu'il a affirmé que, sur 239 grossesses ayant fourni 176 mort-nés, le nombre des rejetons morts et des avortements a passé de 88 pendant la première année de la spécificité maternelle, à 3 et 1 au cours de la cinquième et de la neuvième année. On sait, d'autre part, que la syphilis latente est parfaitement compatible avec la mortinatalité par hérédité maternelle.

Il est donc hors de doute que la *spécificité des procréateurs, en particulier celle de la mère, est compatible avec une progéniture apparemment normale*. Quoique plus exceptionnelle que l'hérédo-syphilis, cette absence de transmissibilité est à retenir : elle nous servira à éclaircir, tant soit peu, le problème de l'hérédité chez les animaux de laboratoire.

Le concept actuel est que l'hérédo-syphilis *germinative* ou *ovulaire* ne saurait être acceptée sans réserve. Admise par Kassowitz et Fournier, elle est combattue, avec de sérieux arguments à l'appui, par Matzenauer et Hoffmann (*loc. cit.*). Péhu et Pizzera (*loc. cit.*) ne l'admettent pas volontiers; ils restent sur l'expectative, en attendant que des recherches expérimentales aient démontré la présence du virus dans les produits d'avortements survenant avant le cinquième mois de la grossesse. Car, fait surprenant : alors que l'on constate assez fréquemment le *Treponema pallidum* dans les organes de fœtus âgés de plus de cinq mois, jamais le spirochète n'a été décelé avant cette date (2). Or, de telles constatations sont incompatibles avec la contamination *ab ovo*.

Il est infiniment plus plausible d'admettre que le virus ne réussit à traverser la barrière hémato-placentaire que plus tard, à un moment où cette barrière subit des modifications anatomiques et biologiques que les histologistes ont précisées il y a déjà longtemps. En effet, vers le quatrième ou le cinquième mois, l'aspect microscopique des villosités change, surtout en

(1) FOURNIER, cité d'après Pizzera (*loc. cit.*).

(2) Il y a cependant une exception; celle relatée par Gräfenberg (cité d'après Hoffmann).

ce qui concerne la structure et la topographie des cellules de Langhans et du *syncytium*. Il s'agit, en l'espèce, d'une véritable involution, en rapport avec un processus également involutif intéressant les vaisseaux sanguins [Fraser (1)]. *La création de véritables brèches villositaires serait ainsi l'un des facteurs favorisant la dispersion du germe à travers le filtre placentaire, à cette période, pour ainsi dire critique, de l'hérédo-syphilis humaine.*

En somme, le *credo* actuel du mécanisme pathogénique de la syphilis héréditaire de l'homme, peut se résumer ainsi :

*Absence d'hérédo-syphilis d'origine exclusivement paternelle, invraisemblance d'une spécificité héréditaire germinative, caractère nettement facultatif du seul mode de transmission admis, celui de la mère à l'enfant, origine non tréponémique des avortements précoces, rôle prépondérant du filtre placentaire dans la contamination des rejetons à partir du cinquième mois de la grossesse. Ajoutons que, d'après Hoffmann (2), ces avortements doivent être mis sur le compte d'une endométrite syphilitique de la mère, endométrite que la clinique et l'histo-pathologie semblent avoir démontré.*

Transposons ces données dans le domaine de la syphilis héréditaire des animaux de laboratoire. Il apparaît nettement que l'absence, ou l'extrême rareté, chez eux, de la contamination des rejetons par les procréateurs syphilités, est superposable à ces observations humaines où, malgré l'infection des conjoints, la maladie épargne la descendance. Ce qui, ici, entrave la dispersion du germe à travers le filtre chorio-placentaire, doit, selon toute vraisemblance, intervenir dans le même sens chez les rongeurs. Or, nous avons vu que toute contamination germinative étant pratiquement exclue, c'est la perméabilité de la barrière vasculo-épithéliale du placenta qu'il faut surtout accuser. L'étanchéité du filtre chorio-placentaire, pendant les cinq premiers mois de la grossesse chez la femme, paraît embrasser, chez les lapins et les souris, toute la période de la vie intra-utérine de l'embryon et du fœtus. *Malgré la présence du virus spécifique et du tréponème dans l'utérus, au contact même de l'endomètre et des tissus destinés à*

(1) FRASER, *Amer. Journ. of Obst. a. Gyn.*, 6, 1923.

(2) HOFFMANN, *Loc. cit.*

*élaborer le placenta maternel, l'embryon et le fœtus restent à l'abri de la contamination, pour la raison que ni virus, ni spirochètes ne réussissent à franchir la barrière que leur opposent les villosités placentaires.*

Enfin, même si nous écartons l'hérédité par contamination directe de l'ovule (contamination que nous n'avons jamais constatée microscopiquement chez les souris), il est, toutefois, possible que la présence du spirochète au voisinage immédiat de la couche germinative des follicules de Graaf, détermine une athrésie de ces follicules, incompatible avec la maturation de l'œuf et sa fécondation par les spermatozoïdes. En réalité, nous avons souvent constaté cette athrésie dans les ovaires parasités. Mais, comme la tréponémose ovarienne est toujours discrète, il se peut aussi que d'autres ovocytes évitent l'infection et continuent à être parfaitement fécondables. Cela expliquerait l'égale incidence des stérilités chez les couples de souris syphilitisés, et dans les familles de muridés indemnes de syphilis.

Certes, ces interprétations des phénomènes observés n'offrent d'autre valeur que celle d'hypothèses de travail. Qui nous dit, en effet, qu'en modifiant d'une manière ou d'une autre la perméabilité placentaire, nous ne réussissions pas à réaliser des conditions expérimentales permettant la transmission héréditaire de la syphilis chez les animaux de laboratoire. Le blocage du système réticulo-endothélial, le traumatisme du tissu placentaire, l'inoculation du virus au delà de la barrière choriale, seraient des moyens à essayer. En attendant, résumons les principales conclusions que nos travaux actuels permettent de formuler :

### Conclusions générales.

1° *L'infection syphilitique, cliniquement inapparente, de la souris, se traduit, entre autres, par la virulence des organes reproducteurs, testicule, utérus et ovaire, dont certains (appareil utéro-ovarien) renferment souvent le Treponema pallidum;*

2° *Le cycle œstral folliculinique ne modifie ni le nombre, ni la répartition des tréponèmes dans l'ovaire et l'utérus; seule la castration ovarienne préalable semble accentuer la parasitose des organes reproducteurs femelles;*



3° Les très jeunes souriceaux sont susceptibles de contracter la tréponémose, même si l'inoculation virulente est pratiquée dès le premier jour de leur naissance;

4° Lorsque le mâle, la femelle, ou les deux conjoints sont syphilités (la durée de leur maladie variant dans de très larges limites), jamais il ne nous a été possible de constater une transmission héréditaire de la syphilis, vérifiable soit par la présence du *Treponema pallidum*, soit par l'inoculation à des animaux réceptifs (lapins);

5° La syphilis des procréateurs ne paraît pas non plus influencer manifestement la fécondation, l'incidence des naissances et la mortalité;

6° Les rejetons issus de parents contaminés n'héritent d'aucun état réfractaire;

7° La tréponémose ne se transmet pas, chez la souris, par la lactation;

8° En nulle circonstance, l'un des conjoints ne se contamine au contact de l'autre, même s'il y a eu fécondation et naissances répétées de rejetons viables;

9° L'absence, ou l'extrême rareté de la transmission héréditaire de la syphilis expérimentale chez les rongeurs (lapins et souris), paraît attribuable à des particularités biologiques et anatomiques du filtre placentaire, dont l'imperméabilité est absolue, chez ces animaux, pendant toute la vie intra-utérine de l'embryon et du fœtus, alors qu'elle n'est que temporaire chez la femme.

(Institut Pasteur et Institut Alfred-Fournier,  
Service de Syphilis et de Chimiothérapie expérimentales.)

**CONTRIBUTION**  
**A L'ÉTUDE DES MALADIES INTESTINALES**  
**DU VER A SOIE**  
**DEUX TYPES NOUVEAUX**  
**DE DYSENTERIE NON INFECTIEUSE**

par A. PAILLOT,  
Membre correspondant de l'Académie d'Agriculture.  
Directeur de la Station de Zoologie agricole du Sud-Est.

A la suite de mes premières recherches sur les dysenteries non infectieuses du ver à soie, j'avais conclu à l'existence de trois types différents de maladies : la dysenterie des filatures, causée par les substances toxiques accompagnant les produits de sécrétion et d'excrétion ; la dysenterie flaccidiforme, provoquée vraisemblablement par des modifications brusques de température ou de milieu à partir de la sortie des premières mues, de la troisième principalement ; la pseudo-flacherie dont la cause est encore hypothétique.

La multiplicité des types morbides ainsi décrits résulte, en premier lieu, de la diversité des lésions cellulaires et tissulaires dont le tube digestif est le siège. Dans le *Traité des maladies du ver à soie* que j'ai publié en 1934 (1), j'ai attiré l'attention sur l'insuffisance des symptômes externes pour le diagnostic des principales affections du ver à soie, en particulier des affections qui ont pour siège le tube digestif. Les symptômes externes sont, en général, mal caractérisés chez les insectes et ne permettent pas de déterminer avec certitude à quelle sorte de dysenterie on a affaire. L'étude des lésions histo- et cytopathologiques sur coupes colorées, donne des renseignements beaucoup plus précis qui permettent d'identifier assez facilement les différents types de maladie.

Les recherches poursuivies, en 1933, dans la Drôme, à la suite

(1) *Traité des maladies du ver à soie*. Doin et C<sup>ie</sup>, éditeurs, Paris, 1934.

de renseignements communiqués par M. Meissier, directeur de l'Office national séricicole de Valence, m'ont permis d'étudier deux types de maladie intestinale dont les symptômes externes se rapprochent beaucoup de ceux de la pseudo-flacherie, mais dont les lésions cellulaires et tissulaires présentent des caractéristiques telles qu'on doit considérer ces deux affections comme des entités morbides bien définies sans rapport avec les maladies décrites jusqu'ici. Le premier type a été observé en fin d'éducation dans une magnanerie modèle de Valence; l'autre, dans plusieurs éducations d'une même localité de la région valentinoise. Pour la clarté de l'exposé, la première maladie sera désignée sous le nom de dysenterie valentinoise; l'autre, sous le nom de dysenterie d'origine embryonnaire.

#### DYSENTERIE VALENTINOISE.

La maladie a été constatée dans une magnanerie que l'on peut qualifier de « modèle » aussi bien au point de vue de l'installation que des soins d'hygiène générale. Elle a éclaté brusquement quelques jours après la sortie de la dernière mue et a causé d'emblée une mortalité importante. Le tableau général de la maladie correspond assez bien à celui de la « flacherie typique » décrit par Acqua. Au moment de ma visite, la plupart des vers avaient déjà tissé leur cocon; mais j'ai pu recueillir néanmoins un certain nombre de vers malades qui ont été immergés aussitôt dans divers mélanges fixateurs : formol salé et bichromate-formol de Regaud. J'ai pu faire également des prélèvements intéressants dans un autre élevage dont les vers provenaient de la première magnanerie et qui avaient été transférés de celle-ci à la sortie de la quatrième mue. La même maladie a été constatée dans cet élevage vers le milieu du cinquième âge, ce qui démontre que sa cause remonte aux premiers âges. L'incubation de la graine a été effectuée dans une incubatrice connue sous le nom de castelet des Cévennes; la durée de l'incubation a été de douze jours. Des graines de même origine incubées dans les mêmes conditions ont donné, par ailleurs, d'excellents résultats. L'éducation a été faite à une température moyenne relativement élevée : 25°C; cette température a été maintenue pendant toute la durée des

mues, ce qui constitue incontestablement une faute d'éducation. La maladie, constatée au dernier âge, est-elle une conséquence directe ou indirecte du chauffage exagéré de la magnanerie pendant la mue? On ne peut l'affirmer, mais l'hypothèse est des plus vraisemblables, aucune autre faute d'éducation n'ayant pu être relevée. On sait d'ailleurs que la mue constitue, pour

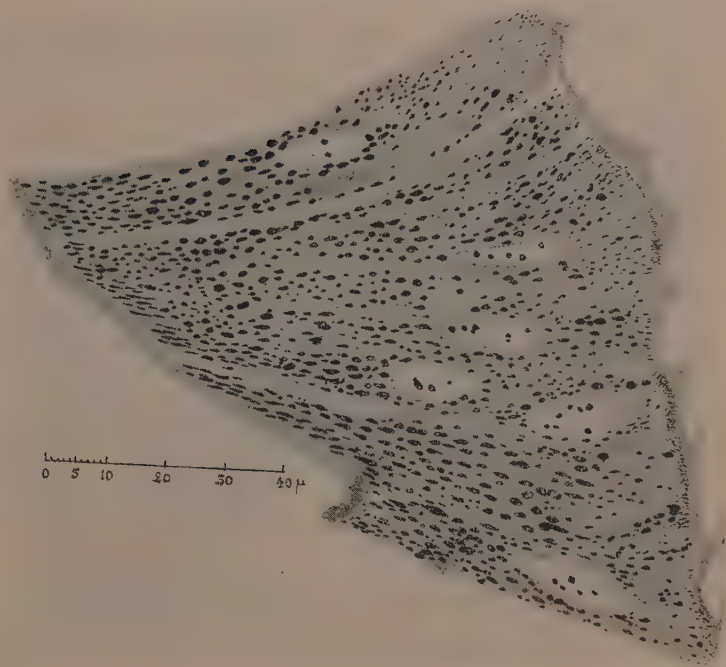


FIG. 1. — Coupe longitudinale dans la partie terminale du méso-intestin antérieur d'un ver à soie atteint de dysenterie valentinoise. Fixation au bichromate-formol de Regaud; coloration de Kull.

les insectes, une époque des plus critiques de la vie larvaire.

D'après les caractères des symptômes externes, la maladie se rapproche beaucoup de la pseudo-flacherie. Les vers, sur le point de mourir, ne se distinguent des vers normaux que par leur immobilité à peu près complète; ils ne répondent plus aux excitations; cependant, contrairement à ce qui se passe dans la pseudo-flacherie, le volume de sang est à peine diminué. En ouvrant le corps longitudinalement, on met en évidence le



tube digestif rectiligne, bourré de matières mal digérées; le tube est dur au toucher et ne se contracte pas comme cela se produit chez les vers normaux. Après la mort, le corps noircit peu à peu, mais beaucoup moins rapidement que chez les vers infestés par le bacille « Sotto », variété française.

L'étude des lésions cellulaires et tissulaires montre qu'on a affaire à une maladie différente de la pseudo-flacherie. Les vers malades ont été fixés sur place : les uns, au formol salé (20 parties de formol à 40 p. 100 dans 80 parties d'eau physiologique); les

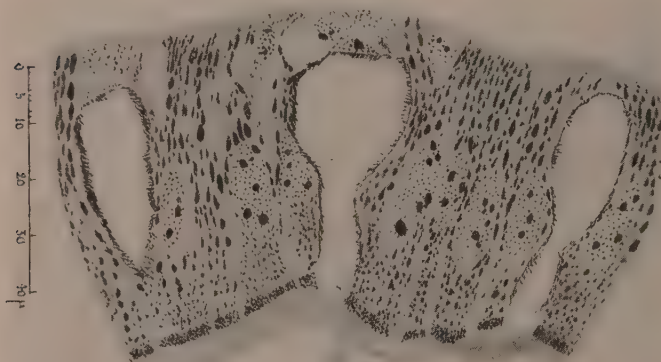


FIG. 2. — Coupe longitudinale à travers le méso-intestin moyen d'un ver à soie atteint de dysenterie valentinoise. Regaud, Kull.

autres, au bichromate-formol de Regaud (20 parties de formol dans 80 parties de solution de bichromate de potasse à 3 p. 100). Après post-chromisation prolongée (trois semaines environ), les pièces sont incluses dans la paraffine. Comme je l'ai indiqué antérieurement, c'est la méthode de coloration de Kull qui m'a donné les meilleurs résultats. Cette méthode consiste en coloration à chaud par la fuchsine acide anilinée à 20 p. 100; puis par le bleu de toluidine à 0,5 p. 100 et différenciation par l'aurantia à 0,5 p. 100. Le chondriome est coloré en rouge, la chromatine en bleu et les nucléoles en rouge.

On sait que le tube digestif du ver à soie est composé de trois parties principales : l'œsophage, tube court et étroit qui fait

suite à la cavité buccale; l'intestin moyen, la partie la plus volumineuse du tube intestinal, dans lequel la feuille de mûrier est soumise à l'action des ferments digestifs, et l'intestin postérieur dont une partie joue le rôle de région absorbante. C'est dans la paroi de l'intestin moyen ou méso-intestin, que les lésions sont les plus importantes et les mieux caractérisées.

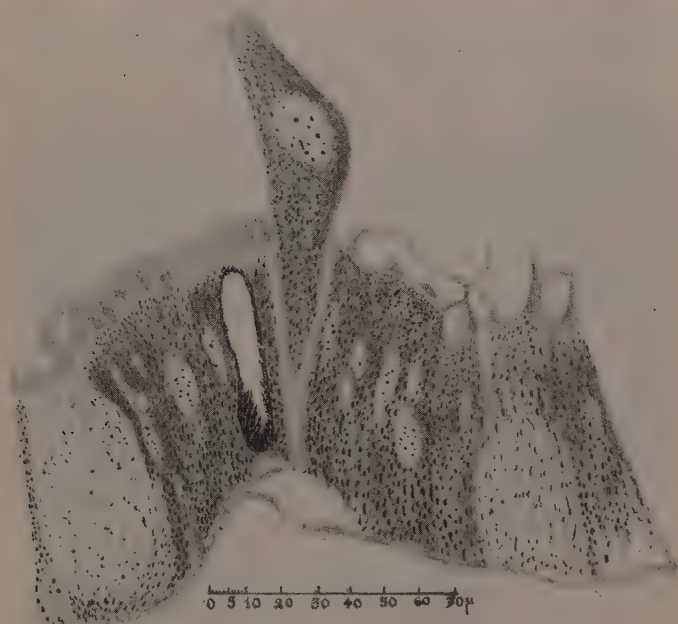


FIG. 3. — Coupe longitudinale à travers le méso-intestin moyen d'un ver à soie atteint de dysenterie valentinoise; expulsion d'une cellule de la paroi épithéliale. Formol salé, Kull.

Cette partie du tube digestif comprend elle-même trois régions différentes histologiquement et fonctionnellement : la région antérieure, très courte, à laquelle j'ai donné le nom de méso-intestin antérieur, est formée de cellules sécrétrices allongées de type cylindrique; le méso-intestin moyen qui lui fait suite, occupe environ les deux tiers de la longueur de l'intestin moyen; il est formé de cellules cylindriques et de cellules caliciformes avec grosse vacuole ciliée; les unes et les autres

alternent plus ou moins régulièrement; le méso-intestin postérieur est formé également de cellules cylindriques et caliciformes alternantes. Ces dernières ne sauraient être homologuées avec les cellules caliciformes des vertébrés; alors que celles-ci sécrètent plus ou moins activement et renferment du mucus que l'on peut mettre en évidence par coloration au muci-carmin, les cellules caliciformes du ver à soie se présentent comme des éléments à l'état de repos fonctionnel; la vacuole, ciliée intérieurement, ne renferme généralement aucun produit de sécré-

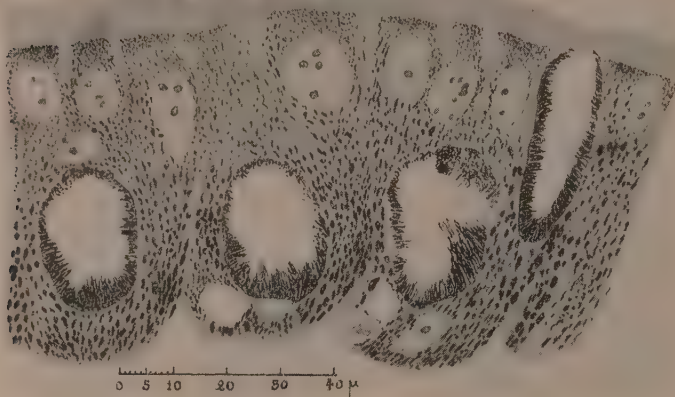


FIG. 4. — Coupe longitudinale dans la région postérieure du méso-intestin moyen d'un ver atteint de dysenterie valentinoise.

tion. Le méso-intestin moyen et le méso-intestin postérieur se différencient surtout au point de vue fonctionnel. Le pH du contenu intestinal est nettement plus élevé dans cette dernière région que dans les régions antérieure et moyenne. Par ailleurs, j'ai montré que l'ultravirus de la gattine se fixait électivement sur le noyau des cellules du méso-intestin postérieur et ne se multipliait pas normalement dans les autres cellules.

L'œsophage et l'intestin postérieur ne présentent pas de lésions caractérisées. Les cellules du méso-intestin antérieur sont souvent en état de sécrétion plus ou moins anormale; le noyau est situé généralement dans la moitié distale; le plus souvent, les nucléoles sont mal colorés et dans beaucoup de cas,

le noyau apparaît constitué uniquement de grains de chromatine. Dans certains noyaux, on distingue une petite masse évidée dans la partie centrale (forme de couronne) et teintée en bleu foncé : il s'agit là, vraisemblablement, d'inclusions d'ori-

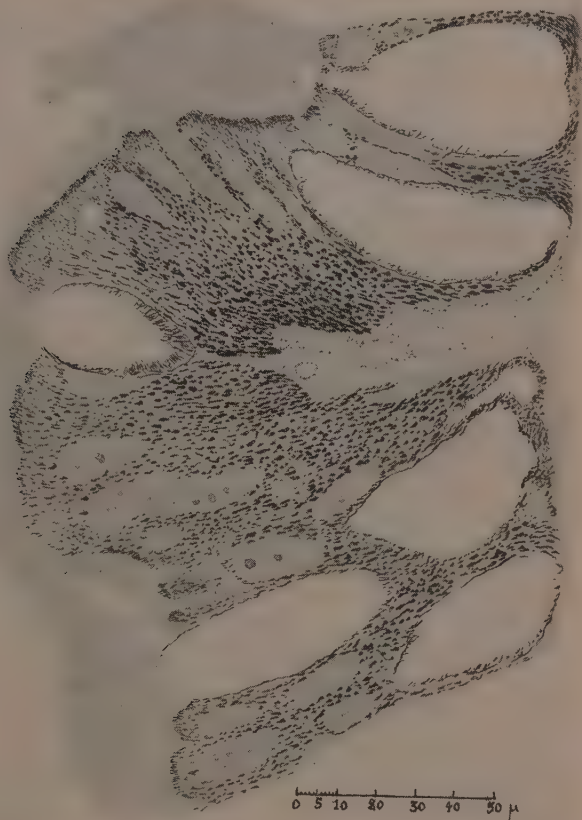


FIG. 5. — Coupe longitudinale dans la région postérieure du méso-intestin moyen contiguë à la portion qui est en voie de destruction.

gine nucléolaire. On peut observer une destruction active de la paroi épithéliale analogue à celle qui se manifeste au niveau du méso-intestin moyen chez les vers atteints de dysenterie des filatures, la paroi intestinale est alors réduite, en certains points, à l'épaisseur des tuniques musculaires. Comme on peut



l'observer dans la figure 1, qui représente une portion de l'épithélium du méso-intestin antérieur, le chondriome est généralement très altéré et se présente sous forme de fuseaux renflés et de grains plus volumineux dans la région basale que dans la

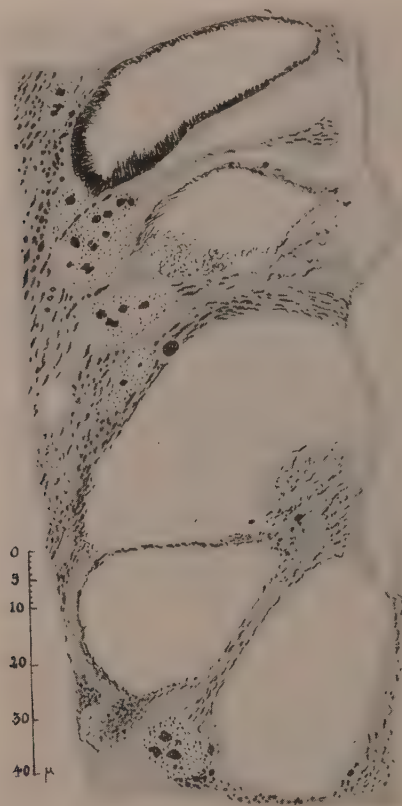


FIG. 6. — Coupe dans la région antérieure du méso-intestin postérieur d'un ver atteint de dysenterie valentinoise. Regaud, Kull.

région distale, contrairement à ce qu'on observe chez les vers atteints de dysenterie flaccidiforme.

La paroi épithéliale du méso-intestin moyen apparaît constituée de cellules cylindriques et caliciformes comme chez les vers normaux. L'altération cellulaire est surtout manifeste au niveau du chondriome dont les éléments se transforment en

fuseaux courts très renflés, en grains plus ou moins volumineux et en bâtonnets courts et trapus. Les noyaux diffèrent du noyau normal par l'affinité moindre des nucléoles pour les colorants acides. Comme dans les cellules du méso-intestin antérieur, les noyaux sont situés généralement dans la région distale de la cellule. La paroi épithéliale du méso-intestin moyen est le siège d'une destruction cellulaire plus ou moins

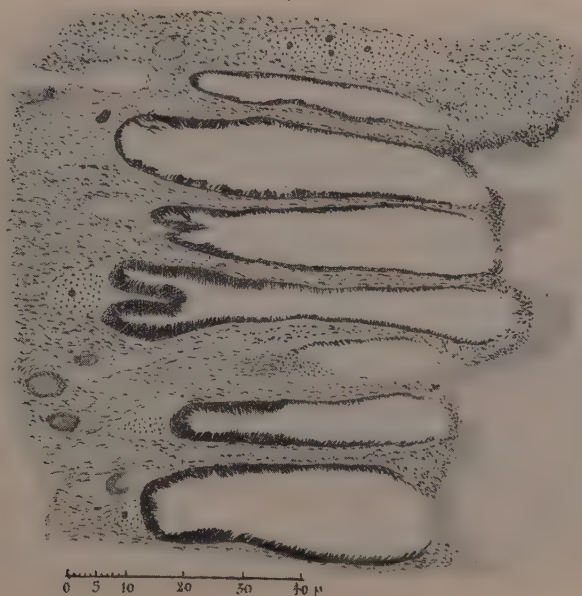


FIG. 7. — Coupe longitudinale dans la région moyenne du méso-intestin postérieur d'un ver atteint de dysenterie valentinoise. Regaud, Kull.

active. J'ai représenté dans la figure 3 une phase de cette destruction : la cellule qui se détache de la paroi est une cellule cylindrique ; parvenue dans l'espace endotrophique, elle tend à prendre la forme arrondie. La destruction cellulaire est surtout active dans la région postérieure du méso-intestin moyen. A ce niveau, la paroi intestinale est souvent réduite à l'épaisseur de la couche musculaire.

Le méso-intestin postérieur ne diffère guère de celui des vers normaux ; la paroi épithéliale est beaucoup moins altérée

que celle du méso-intestin moyen. On peut constater, toutefois, un accroissement notable du volume des vacuoles ciliées dans la région avoisinant la région méso-intestinale détruite, comme l'indique la figure 6.

Les cellules cylindriques sont resserrées entre les vacuoles dont certaines, comme les trois qui sont représentées en bas de la figure 6, sont dépourvues de bordure ciliée. Dans cette région, les nucléoles du noyau sont mal colorés ou teintés en bleu par

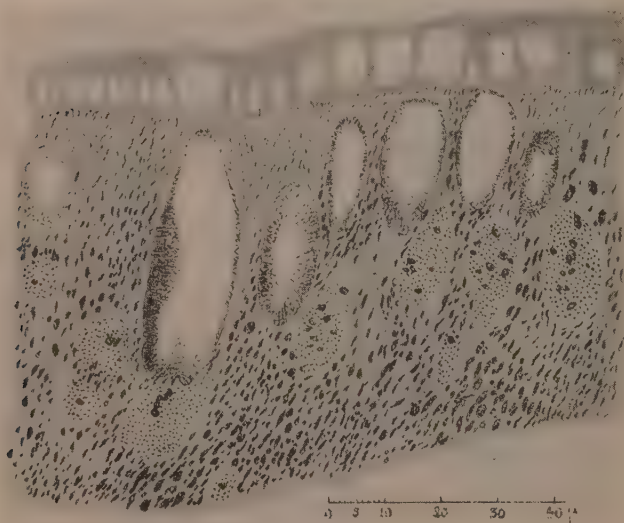


FIG. 8. — Coupe longitudinale dans le méso-intestin postérieur d'un ver atteint de dysenterie valentinoise. Regaud, Kull.

le bleu de toluidine. Le chondriome est plus ou moins altéré et se présente sous forme de fuseaux, de grains et de bâtonnets courts accumulés surtout dans la région basale. Dans la région postérieure du méso-intestin postérieur, l'altération de la paroi épithéliale est moins avancée que dans la région antérieure. Les nucléoles sont plus nettement fuchsinophiles et le chondriome se présente généralement sous la forme de filaments fins et déliés. Dans beaucoup de cellules de la région moyenne, on observe la présence de nombreuses petites vacuoles, principalement entre le plateau cellulaire et le noyau.

Le plateau cellulaire est généralement bien conservé sur l'ensemble de la paroi épithéliale de l'intestin moyen ; en beaucoup de points, il apparaît creusé de vacuoles plus ou moins volumineuses ; il présente parfois un aspect strié qui rappelle celui d'une couche ciliée (fig. 4).

Chez les vers malades, le contenu intestinal est généralement en état d'infection microbienne, mais cette multiplication anormale de bactéries intestinales ne doit pas être considérée comme la cause des lésions cellulaires et des troubles fonctionnels qui en dérivent. On peut observer en effet des vers chez

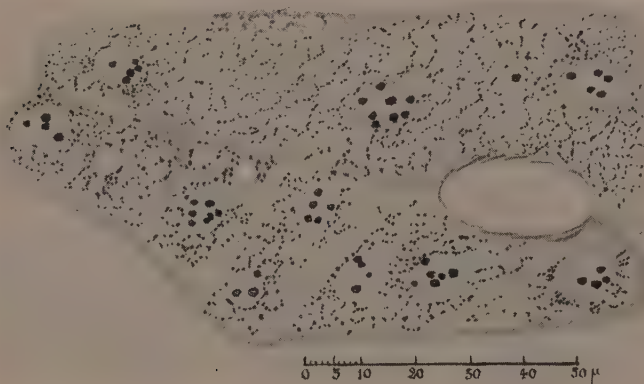


FIG. 9. — Cellule adipeuse de ver atteint de dysenterie valentinoise.  
Regaud, Kull.

lesquels les lésions de la paroi épithéliale sont déjà nettement accusées alors que le contenu intestinal ne renferme pour ainsi dire pas de bactéries. C'est généralement le *Streptococcus bombycis* (« ferment en chapelets de grains » de Pasteur) qui se multiplie le plus activement ; mais on peut observer aussi d'autres espèces, en particulier le bacille sporulé que je considère comme une variété du bacille « Sotto » des auteurs japonais et qui ne doit pas être confondu avec un autre bacille sporulé, le *Bacillus bombycis* (« vibrion à noyau » de Pasteur), microbe de sortie de la flacherie vraie ou flacherie de Pasteur.

Le chondriome des cellules adipeuses et sanguines est généralement granuleux.



Par ses caractères anatomo-pathologiques différents de ceux de la pseudo-flacherie, de la dysenterie des filatures et de la dysenterie flaccidiforme, la dysenterie valentinoise doit être considérée comme une véritable entité morbide. Le chauffage exagéré de la magnanerie, surtout au moment de la mue, paraît être la cause principale de la maladie.

#### DYSENTERIE D'ORIGINE EMBRYONNAIRE.

M. Meissier m'ayant informé qu'une grave maladie sévissait dans une localité de la région de Valence, je m'y suis rendu aussitôt et ai constaté effectivement qu'une dizaine d'éducatrices étaient en mauvais état; la plupart des éducateurs ont d'ailleurs jeté les vers avant la fin de l'élevage. Le tableau suivant donne une idée précise de l'intensité de la maladie.

NUMÉRO d'ordre des éducations	POIDS de graines mises en incubation en grammes	POIDS de cocons récoltés en kilogrammes	OBSERVATIONS
1. . . . .	30	12	Cocons de qualité médiocre.
2. . . . .	30	0	
3. . . . .	30	44,600	
4. . . . .	20	8	Cocons de qualité assez médiocre.
5. . . . .	20	0	
6. . . . .	20	7	
7. . . . .	40	67	Cocons de médiocre qualité; beaucoup de vers tapissiers.
8. . . . .	10	0	
9. . . . .	50	0	
10. . . . .	10	20,500	Cocons d'assez bonne qualité.
11. . . . .	20	0,600	
12. . . . .	40	0	

Les vers de toutes ces éducations défectueuses avaient pour origine le même lot de graine; ceux d'autres lots dont les graines ont été mises en incubation avec celles du lot incriminé, ont donné une très bonne récolte. Il semble donc que la cause réelle de la maladie remonte à la période embryonnaire. Il est possible, par exemple, que des troubles d'une nature indéterminée se soient manifestés pendant l'évolution embryogénique à partir de la mise en incubation; l'accélération anormale des processus embryogéniques (la durée de l'incubation

des graines incriminées a été sensiblement plus courte que celle des autres lots placés dans les mêmes conditions) viendrait à l'appui de cette thèse.

Quoi qu'il en soit, la mortalité s'est manifestée dans toutes les éducations, surtout à partir de la sortie de la quatrième mue.

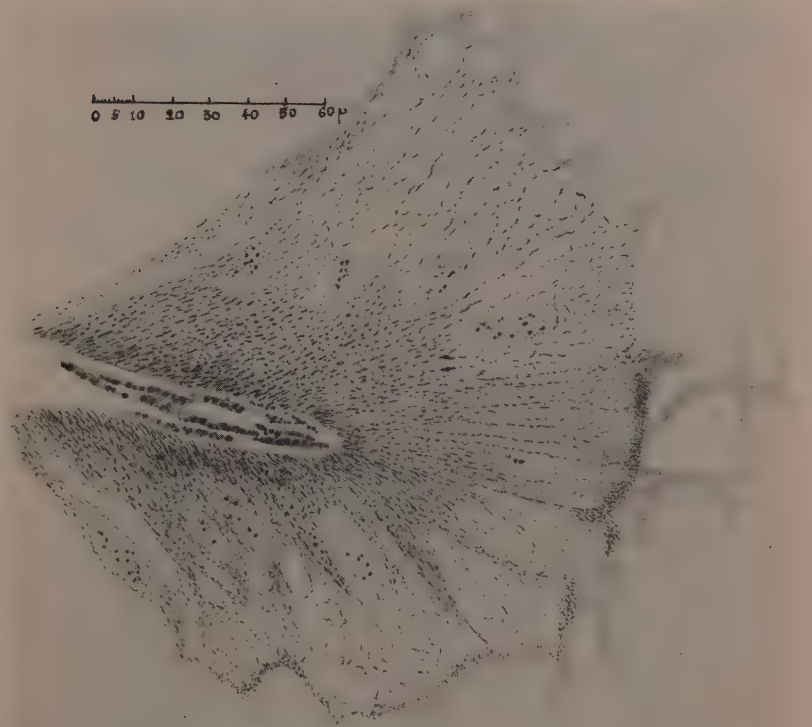


FIG. 10. — Coupe longitudinale à travers le méso-intestin antérieur d'un ver atteint de dysenterie d'origine embryonnaire. Formol salé, Kull.

Un premier examen sommaire des vers malades m'a laissé supposer qu'il s'agissait d'une épidémie de gattine ordinaire; mais l'examen cytologique de l'épithélium du méso-intestin postérieur par la méthode rapide des frottis, n'a révélé l'existence d'aucune lésion nucléaire suspecte. L'étude des lésions histo- et cytopathologiques m'a permis de conclure à l'existence d'une dysenterie différente de celles décrites jusqu'ici.

Certaines des magnaneries, parmi les plus atteintes, étaient remarquablement bien tenues et ne laissaient rien à désirer au point de vue de l'hygiène. La mortalité a été d'emblée très importante aussitôt après la sortie de la quatrième mue, alors

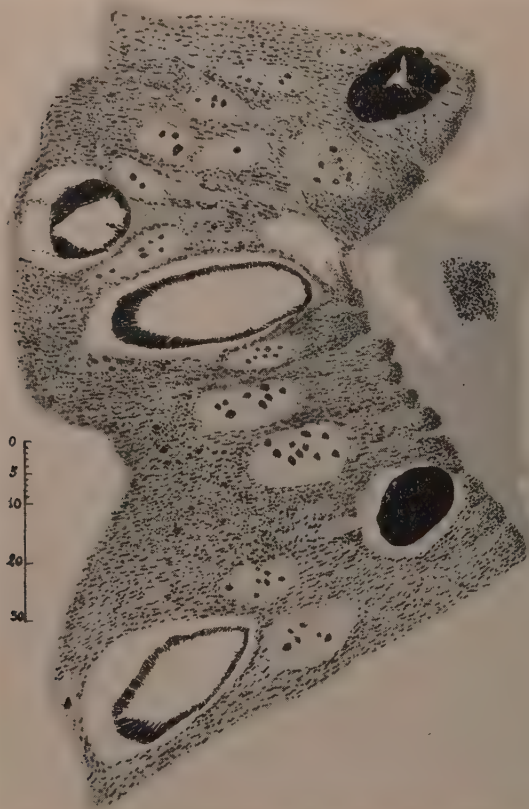


FIG. 11. — Coupe longitudinale dans le méso-intestin moyen d'un ver atteint de dysenterie d'origine embryonnaire. Regaud, Kull.

que dans la maladie précédemment étudiée, elle s'était manifestée à un stade plus avancé de la vie larvaire.

Les vers malades ont été prélevés dans cinq éducations différentes et fixés au formol salé et au bichromate-formol de Regaud. Après coloration des coupes suivant la méthode de

Kull, on constate que la paroi épithéliale de l'intestin moyen présente des caractères nettement différents de ceux qui ont été constatés chez les vers atteints de la dysenterie valentinoise, Les premières cellules du méso-intestin antérieur ne diffèrent

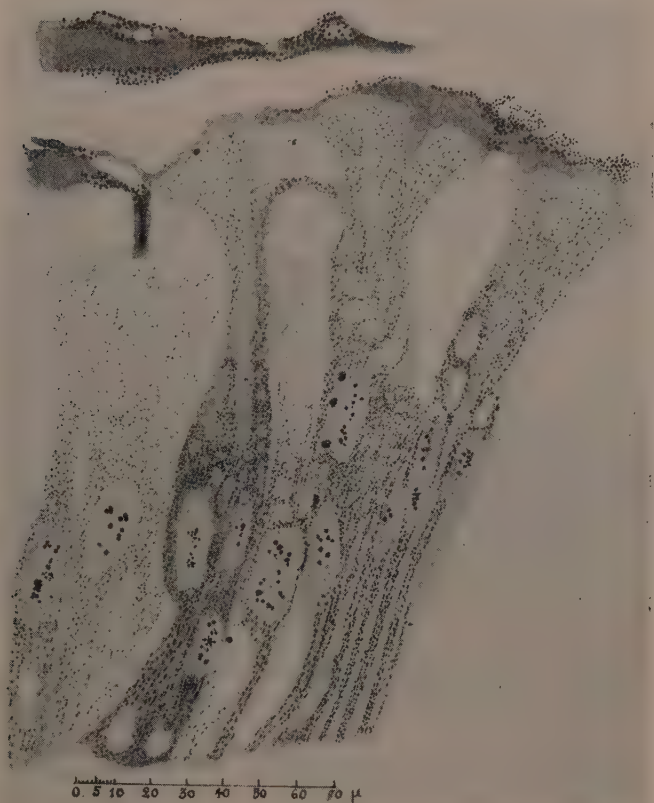


FIG. 12. — Coupe longitudinale dans le méso-intestin moyen d'un ver atteint de dysenterie d'origine embryonnaire. Regaud, Kull.

pas sensiblement des cellules normales. Dans celles qui suivent, le noyau se présente comme un organite à l'état de repos fonctionnel et se trouve situé généralement dans la région moyenne de la cellule. Les nucléoles sont relativement nombreux et se colorent intensément par la fuchsine acide. Le chondriome est



assez peu altéré; chez un certain nombre de vers, parmi les plus atteints, il se présente sous forme de fuseaux et de grains. D'une manière générale, la sécrétion est beaucoup moins abondante que chez les vers atteints de dysenterie infectieuse. Chez les vers les plus malades, des cellules libres détachées de la paroi se rencontrent en plus ou moins grand nombre dans l'espace endotrophique.

Comme chez les vers atteints de pseudo-flacherie, on observe

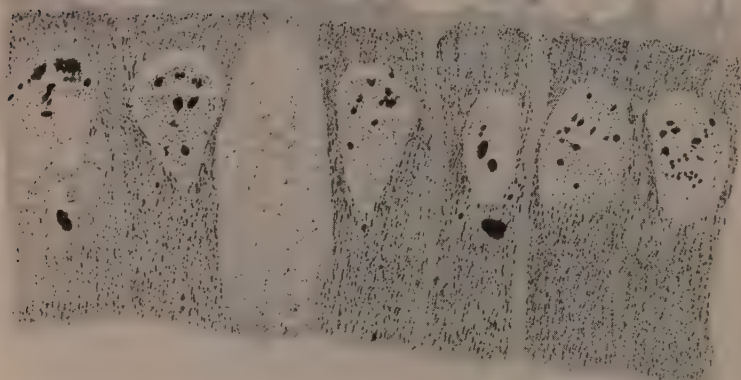


FIG. 13. — Coupe longitudinale à travers le méso-intestin moyen d'un ver atteint de dysenterie d'origine embryonnaire. Regaud, Kull.

une destruction presque générale des vacuoles ciliées dans l'épithélium du méso-intestin moyen; dans un premier stade, la bordure ciliée se détache en bloc et une auréole claire apparaît tout autour de la couronne fuchsinophile qui prend un aspect laqué; la couronne diminue petit à petit de diamètre et se transforme en une masse fuchsinophile qui est expulsée finalement de la paroi épithéliale. Les différentes phases du processus peuvent être observées dans la figure 11.

Le cytoplasme présente souvent, dans son épaisseur, de nombreuses petites vacuoles arrondies aussi bien dans la partie distale de la cellule que dans sa moitié basale. Ces vacuoles

fusionnent et donnent naissance à des vacuoles plus ou moins volumineuses comme on peut l'observer dans la figure 12 par exemple. Le ver chez lequel ont été observées de telles lésions était en état d'infection microbienne intestinale avancée. La paroi épithéliale peut se présenter sous un aspect un peu différent : les cellules apparaissent serrées les unes contre les autres et prennent un aspect filiforme ; ce sont toutes des cellules de type cylindrique. Le noyau est comme suspendu au milieu d'un espace clair.

Le plateau cellulaire est généralement très vacuolaire ; en certains endroits, la bordure externe se détache et se joint à la membrane péritrophique dont l'épaisseur est ainsi sensiblement augmentée. Le phénomène est à rapprocher de celui qu'on observe à la fin de la mue et qui a été décrit par Tahir E. (1). Cependant, d'après Madeleine v. Dehn (2), qui a étudié l'origine de la membrane péritrophique chez divers insectes, il faudrait distinguer la bordure en brosse des cellules intestinales de la membrane chitineuse qui se forme à la surface de la cellule et est expulsée ensuite dans la lumière intestinale pour reconstituer la nouvelle péritrophique. Les deux phénomènes seraient donc très différents ; mais il y a lieu de faire des réserves sur l'interprétation des faits mis en évidence par l'auteur allemand ; je me propose d'ailleurs de reprendre prochainement cette étude de l'origine de la membrane péritrophique chez le ver à soie. Quoi qu'il en soit, chez les vers malades, le plateau cellulaire tend à prendre un aspect très déchiqueté. Dans les cellules, très altérées, le cytoplasme se présente sous forme de minces trabécules à peine colorées. Cet aspect est surtout bien caractérisé dans la région postérieure, mais on n'observe pas, comme dans la maladie précédemment étudiée, une destruction cellulaire comparable à celle qui a été décrite plus haut. Examinée sur coupe à un faible grossissement, la paroi épithéliale apparaît plus claire et plus vacuolaire à ce niveau que partout ailleurs.

Les cellules caliciformes du méso-intestin postérieur sont

(1) Sur l'origine de la membrane péritrophique chez le ver à soie. *C. R. Ac. Sc.*, 188, 1929.

(2) Untersuchungen über die Bildung der peritrophischen Membran bei den Insekten. *Zeitsch. f. Zellforsch. u. Micr. Anat.*, 19, 1933, p. 79 à 101.

électivement détruites comme celles du méso-intestin moyen, mais cette destruction est postérieure à celle qui se manifeste



FIG. 14. — Coupe longitudinale dans la région terminale de l'intestin moyen d'un ver atteint de dysenterie d'origine embryonnaire. Regaud, Kull.



dans cette dernière région. D'une manière générale, la marche des processus morbides a lieu d'avant en arrière.

L'extrémité postérieure du méso-intestin postérieur est souvent le siège d'une active sécrétion; on constate, en effet, la



FIG. 15. — Coupe longitudinale dans le méso-intestin postérieur d'un ver atteint de dysenterie d'origine embryonnaire. Cellules en voie d'expulsion et de désagrégation. Regaud, Kull.

présence de nombreuses boules de sécrétion à la surface de la couche épithéliale. Les cellules de cette région sont donc des cellules sécrétrices comme celles de la région méso-intestinale précédente et non des cellules absorbantes comme l'admettent



certain auteurs. J'ai montré antérieurement que l'absorption des éléments nutritifs solubles résultant de la digestion avait lieu au niveau de la partie renflée de l'intestin postérieur qui précède l'ampoule rectale ; j'ai donné à cette portion du tube le nom de région absorbante.

Le chondriome est relativement peu altéré, au moins dans la moitié postérieure du méso-intestin postérieur. La transformation en grains et bâtonnets courts a lieu peu avant la mort. La paroi épithéliale est souvent le siège d'une destruction cellulaire assez active. Le début de ce stade est représenté dans la figure 15. Quand la destruction est très active, la paroi prend un aspect plissé très caractéristique avec réduction d'épaisseur de la couche cellulaire et augmentation d'épaisseur de la couche musculaire. D'une manière générale, les bactéries intestinales se multiplient beaucoup plus activement dans les régions antérieure et moyenne de l'intestin moyen que dans la région postérieure.

Les organes autres que l'intestin moyen ne présentent pas de lésions bien caractéristiques. On peut noter cependant que dans les cellules adipeuses et sanguines, le chondriome se présente généralement sous la forme granuleuse.

La constance de lésions cellulaires et tissulaires bien caractérisées chez tous les vers à soie des différents élevages atteints par la maladie, permet de conclure qu'on a affaire ici à une entité morbide bien définie. La cause morbide n'a pu être déterminée exactement, mais du fait que la maladie a éclaté simultanément dans plusieurs éducations de vers à soie non soumis aux mêmes conditions d'élevage depuis l'éclosion des vers, il est permis de supposer que la cause remonte à une période antérieure à cette éclosion. Ce nouveau type de dysenterie ne saurait, en tout cas, être assimilé à l'un des différents types étudiés jusqu'ici.

### Conclusions générales.

Les cinq cas différents de dysenterie non infectieuse que j'ai fait connaître jusqu'à ce jour, sont caractérisés avant tout par les lésions cellulaires du tube digestif, lésions qui ne peuvent être mises pleinement en évidence que par l'emploi de méthodes histologiques spéciales dites : mitochondriales.

Certains auteurs me reprocheront peut-être d'avoir com-

pliqué la question de la pathologie du ver à soie en multipliant les cas de maladies intestinales. Ce même reproche avait déjà été adressé aux vieux auteurs bacologues qui ont décrit un assez grand nombre d'affections différentes caractérisées par l'aspect extérieur des vers malades. Pasteur simplifia à l'extrême la question de la pathologie du tube intestinal et ramena toutes les maladies connues à une seule : la flacherie, dont la cause principale devait être attribuée à une fermentation anormale du contenu intestinal sous l'influence de microbes divers. J'ai montré que cette conception était inexacte et correspondait mal avec la réalité des faits observés. Si certaines maladies intestinales sont nettement contagieuses, d'autres, par contre, résultent incontestablement de l'action de causes diverses sans rapport avec des organismes parasitaires. Cette action déclenche des processus plus ou moins bien caractérisés, qui se traduisent par des lésions organiques, des lésions cellulaires et tissulaires et par des troubles fonctionnels dont l'ensemble définit l'entité morbide. Les facteurs externes qui peuvent agir en période d'élevage comme causes morbides sont assez nombreux, on a cité : l'élévation anormale de la température pendant la mue, le manque d'équilibre entre la température ambiante et l'alimentation, l'alimentation avec des feuilles de mûrier fermentées, l'intoxication par des poussières riches en poisons organiques, etc.. Les facteurs intrinsèques résultant de tares héréditaires ou de conditions embryogéniques défectueuses peuvent également jouer le rôle de causes morbides. Il est conforme aux enseignements de la pathologie générale de considérer ces causes, les lésions organiques et les troubles fonctionnels qui en dérivent comme des entités différentes.

Mes recherches propres n'ont pu aboutir à la définition complète de chaque entité morbide; trop souvent, en effet, la cause morbide n'a pu être déterminée avec certitude. Ce sera le but des recherches futures de préciser la nature des différentes causes d'altération de la fonction intestinale, afin d'être en mesure d'éviter les accidents d'éducation qui en résultent.

On peut résumer ainsi les caractères anatomo-pathologiques différentiels des principales formes de dysenteries non infectieuses décrites jusqu'à ce jour :

1° *Dysenterie des filatures* : Augmentation de volume des



vacuoles ciliées et diminution de volume des cellules cylindriques; destruction cellulaire active au niveau de la région postérieure du méso-intestin moyen;

2° *Dysenterie flaccidiforme* : Lésions cellulaires généralisées à l'ensemble de la paroi épithéliale de l'intestin moyen, les extrémités antérieure et postérieure exceptées. Les lésions sont caractérisées par une altération générale du chondriome dont les éléments se présentent sous forme de fuseaux, de grains ou de plastes plus ou moins volumineux; les plastes se rencontrent principalement dans la région distale de la cellule. Tout se passe, dans cette maladie, comme si les vers restaient impuissants à dénouer la crise déterminée par la mue;

3° *Pseudo-flacherie* : Destruction élective des vacuoles ciliées et expulsion de la couronne ciliée dans la lumière intestinale; fragmentation des filaments chondriosomiques et vésiculisation des grains; ralentissement considérable de la sécrétion intestinale; multiplication très active des bactéries intestinales; altération des cellules de la région absorbante dont les filaments fuchsinophiles de la couche sous-cuticulaire se transforment en grains; diminution considérable du volume du sang;

4° *Dysenterie valentinoise* : Symptômes de pseudo-flacherie; mais on n'observe pas, comme dans cette dernière affection, une disparition générale des vacuoles ciliées des cellules caliciformes; destruction plus ou moins active des cellules de la paroi épithéliale dans la région postérieure du méso-intestin moyen; diminution très sensible de la fuchsinophilie des nucléoles dans les noyaux des cellules épithéliales du méso-intestin;

5° *Dysenterie d'origine embryonnaire* : Destruction élective des vacuoles ciliées des cellules caliciformes; la destruction commence dans la région antérieure et progresse vers l'extrémité postérieure; il n'y a pas diminution de volume de la masse sanguine comme dans la pseudo-flacherie.

---

Le Gérant : G. MASSON.